

THESIS

München

1968

ÜBER DIE BEDEUTUNG DER ABO - INKOMPATIBILITÄT
BEI THROMBOZYTENTRANSFUSIONEN

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
MEDICAL CENTER
STANFORD, CALIF. 94305

CHRISTIAN L THIEDE



Digitized by the Internet Archive
in 2026

AUS DEM INSTITUT FÜR HÄMATOLOGIE DER GSF
ASSOZIATION EURATOM, MÜNCHEN
(Leiter: Professor Dr. W. STICH)

ÜBER DIE BEDEUTUNG DER A B O -INKOMPATIBILITÄT
BEI THROMBOZYTENTRANSFUSIONEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
CHRISTIAN THIEDE
aus Stettin

München 1968

LEIDIG-Druck, 8 München 2, Dachauerstr. 46/I, Tel. 592124

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. W. STICH

Korreferent: Professor Dr. H. SCHWIEGK

Dekan: Professor Dr. F. HOLLE

Tag der mündlichen Prüfung: 16.7.1968

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. Problemstellung	5
II. Bisherige Technik und Ergebnisse bei Thrombo- zytentransfusionen	6
A Thrombozytentransfusionen zu therapeutischen Zwecken	6
1. Historischer Überblick	6
2 Die Zubereitung von therapeutischen Thrombozytentransfusionen	6
a) Die Auswahl von geeigneten Thrombozyten	6
b) Die Verarbeitungszeit	7
c) Das Material	8
d) Das Antikoagulans	8
e) Die benötigte Ausbeute an Thrombozyten	9
f) Die Zentrifugation	9
3. Zur Anwendung von therapeutischen Thrombo- zytentransfusionen	10
B Thrombozytentransfusionen in Forschung und Diagnostik	11
1. Zur normalen und pathologischen Physiologie der Thrombozyten	11
2. Zur splenopathischen Knochenmarkshemmung	12
3. Zur Differentialdiagnose von Thrombopenien	13
4. Zur Indikation der Splenektomie	13
III. Eigene Untersuchungen	14
A Methodik und Material	14
1. Die Zubereitung der markierten Thrombo- zytentransfusionen	14
a) Spender und Empfänger	15
b) Die Zählung der Thrombozyten	15
c) Die Bestimmung des Thrombozyten- und Leukozyten-Antikörpertiters	15
d) Das inkompatible Transfusionsplasma	15
e) Die Portionierung des Spenderblutes	16
f) Die Einstellung des pH des Abnahme- blutes auf 6,5	16

	g) Zur Differentialzentrifugation	16
	h) Zur Markierung der Thrombozyten	18
	i) Zur Bestimmung der transfundierten Aktivitäten	19
	2. Die Wiedergewinnung und Messung der mar- kierten Thrombozyten aus dem Empfänger- kreislauf	20
	a) Zum verwendeten Material	20
	b) Zur Isolierung der Thrombozyten aus der Blutprobe	20
	c) Zur Berechnung der wiedergewonnenen Thrombozytenaktivität	21
	d) Die Messung der Thrombozytenaktivität aus dem Vollblut	22
	3. Arbeitsvorschrift Teil I und II Materiallisten Teil I und II	24-35
B	Ergebnisse	36
	1. Kurvenverlauf	36
	2. Lebensdauer der Thrombozyten	36
	3. Die Höhe der wiederentdeckten Thrombo- zytenaktivität	36
	a) Die Auswirkung des Antikörpertiters auf die Recovery	39
	b) Die Auswirkung des Antigentiters auf die Recovery	39
	4. Zur Frage der Unverträglichkeitserschei- nungen bei inkompatiblen Thrombozyten- transfusionen	40
C	Diskussion	41
	1. Die Auswirkung der mechanischen Schädi- gung der Thrombozyten	41
	2. Die Auswirkung von mittransfundierten Erythrocyten oder "A-Substanz"	45
	3. Die Auswirkung des Bezugswertes für die Recovery	45
	4. Folgerungen aus den vorliegenden Ergebnissen	46
	a) für Thrombozytentransfusionen zu diagnostischen Zwecken	46
	b) für Thrombozytentransfusionen zu therapeutischen Zwecken	46
IV	Zusammenfassung	47
V	Literatur	49

I. PROBLEMSTELLUNG

Wir haben menschliche Thrombozyten markiert und transfundiert, um ihren Abbau im Empfängerorganismus unter normalen und pathologischen Verhältnissen zu studieren. Hierbei bemerkten wir, daß unsere Ergebnisse in einem Punkt mit denen der bis dahin vorliegenden Literatur (1), (2), (3) nicht übereinstimmten: Die von uns wiederentdeckte, thrombozytengebundene ^{51}Cr -Aktivität war bei ABO-inkompatiblen Transfusionen merklich geringer als bei ABO-kompatiblen.

Allein diese Diskrepanz hätte genug Anreiz zu weiteren Untersuchungen gegeben. Hierzu kam aber noch die weitreichende praktische Bedeutung dieses Problems im Zusammenhang mit therapeutischen Thrombozytentransfusionen. Bei Patienten, die wiederholt Thrombozytentransfusionen brauchen, tritt eine ständig fortschreitende Isoimmunisation ein. Dadurch wird der Kreis der Spender, gegen deren Thrombozyten-Antigenmuster noch keine Antikörper gebildet worden sind, eingeschränkt. Wenn ABO-inkompatible Thrombozytentransfusionen tatsächlich genau so effektiv wären wie kompatible, könnte der Spenderkreis eventuell erweitert und dem Patienten länger geholfen werden.

Falls durch die Erforschung der Thrombozyten-Antigene die Isoimmunisierung einmal vermeidbar werden sollte, würde der ABO-inkompatible Spender aus folgendem Grunde erst recht an Bedeutung gewinnen: Wie in Abschnitt IIA_{2e} dargelegt wird, erfordern therapeutische Thrombozytentransfusionen das Blut von ca. fünf Spendern. Dabei wäre es für die Blutbanken sehr **vorteilhaft**, wenn die Spender ohne Berücksichtigung der ABO-Kompatibilität nur nach der Verträglichkeit ihres Thrombozyten-Antigenmusters ausgesucht werden könnten.

II. BISHERIGE TECHNIK UND ERGEBNISSE BEI THROMBOZYTENTRANSFUSIONEN

A THROMBOZYTENTRANSFUSIONEN ZU THERAPEUTISCHEN ZWECKEN

1 Historischer Überblick

Vor 50 Jahren versuchte DUKE als erster, den Thrombozytenspiegel bei Thrombozytopenikern durch Vollbluttransfusionen zu heben. Die Ansichten über den Effekt dieser Transfusionen differieren stark (4), (5). Mit eindeutigerem Erfolg arbeiteten HIRSCH und DAMASHEK (6), die 1950 das Blut von Polycythämikern direkt transfundierten. Aber bereits 1935 hatte FONIO (7) das Konzept der modernen Thrombozytentransfusion entworfen: die Isolierung und Konzentrierung der Plättchen aus normalem Spenderblut. Es sind inzwischen viele Anstrengungen gemacht worden, diese Idee optimal in die Tat umzusetzen. BOSCH (1) gibt einen ausgezeichneten Überblick über die entsprechende Literatur.

Der geringe Erfolg, der vielerorts mit therapeutischen Thrombozytentransfusionen erzielt wird, läßt sich u. a. sehr oft auf eine unsachgemäße Zubereitung derselben zurückführen. Wir fassen deshalb noch einmal fremde und eigene Erkenntnisse zusammen, die augenblicklich als beste Voraussetzungen für die Zubereitung dieser Transfusion gelten dürfen.

2 Die Zubereitung von therapeutischen Thrombozytentransfusionen

a) Die Auswahl von geeigneten Thrombozyten:

Bekanntlich unterstützen die Thrombozyten auf Grund ihrer biochemischen und morphologischen Eigenschaften alle drei Teilphasen der Blutstillung: Der von ihnen synthetisierte sogenannte Plättchenfaktor 3 ist ein wesentlicher Bestandteil des Thrombokinasystems, das die Blutgerinnung katalysiert (8). Die Fähigkeit zur selektiven Adhäsivität an krankhaft veränderten Geweben und zur Agglutination untereinander ermöglicht die Thrombusbildung. Die Verfestigung des anfänglich lockeren Blutkuchens durch das thrombozyteneigene Thrombasthenin führt zum mechanischen Gefäßverschluß (8). Als Träger verschiedener gefäßaktiver Substanzen wie Adrenalin, Serotonin und Histamin (8) gewinnen die Thrombozyten auch Einfluß auf die dritte Phase der Blutstillung, die Gefäßmotorik.

Diese komplexen Leistungen können nur normale, möglichst unbeschädigte

und in ihrem natürlichen Milieu belassene Thrombozyten vollbringen. Integrität der Zellen und geeignetes Milieu sind Sache der Zubereitungstechnik. Die Normalität der Plättchen, im Sinne einer vollen Funktionsfähigkeit muß bereits bei der Auswahl des Spenders gewährleistet werden. Hierbei ist zu beachten, daß, außer der klinisch auffälligen und deshalb leichter auszuschaltenden Thrombasthenie nach GLANZMANN, ein Mangel an Plättchenfaktor 3 vorkommen kann, der sich äußerlich nicht durch Petechien verrät. So wurde bei der Thrombozytose elektronenmikroskopisch eine starke Verminderung der α -Granula in den Thrombozyten nachgewiesen (9). Diese Granulafraktion enthält den Plättchenfaktor 3. Hierdurch wird die häufig beobachtete, erhöhte Blutungsbereitschaft nach Verletzungen bei Thrombozythämikern erklärt (10). HEILMEYER (11) hält es für denkbar, diese betonte Blutungsneigung auf die absolute Vermehrung von Antikoagulantien, die zweifellos auch in den Plättchen vorhanden sind (8), zurückzuführen. Eine bloße Vermehrung an normalen Thrombozyten dürfte aber die Relation von gerinnungshemmenden zu gerinnungsfördernden Faktoren nicht verändern und somit kaum als Erklärung der Blutungsneigung dienen.

Häufiger als dieser direkte Mangel an Plättchenfaktor 3 kommt eine Freigabebehinderung vor, wie MARX (12) sie beim v. WILLEBRAND-JÜRGENS-Syndrom zum ersten Mal nachgewiesen hat. Als Ursachen für diese verminderte Freisetzung werden eine vermehrte Resistenz der Plättchenmembranen (13) oder die Blockade der Thrombozytenoberfläche durch Makromoleküle angenommen. Die erhöhte Blutungsneigung bei Makroglobulinämie WALDENSTRÖM (14) und nach Injektion hochmolekularer Dextrane (15) wird so erklärt.

In der Praxis wird man diese ungeeigneten Spender anamnestisch aussondern. Prinzipiell ergibt sich aus dem Gesagten aber die Forderung, Spenderblut für therapeutische Thrombozytentransfusionen durch den Prothrombin-Verbrauchstest auf eventuellen Mangel an Plättchenfaktor 3 (oder an anderen Plasmafaktoren) zu untersuchen. Diese Forderung wird unabdingbar für das Blut von Poly- und Thrombozythämikern, das auf den ersten Blick für Transfusionszwecke besonders geeignet erscheinen mag.

b) Die Verarbeitungszeit:

Die Zeit zwischen Abnahme und Transfusion der Thrombozyten ist so kurz wie möglich zu halten und sollte drei Stunden nicht überschreiten. Nach drei Stunden geht die Zahl der überlebenden Thrombozyten merklich

zurück (16), nach eigenen Erfahrungen um ca. 16 %.

Nur wenige Untersucher haben sich bislang mit der Konservierung der Thrombozyten beschäftigt (17). Eine Methode, menschliche Thrombozyten für längere Zeit aufzubewahren, ohne nach der Transfusion erhebliche quantitative und quantitative Verluste hinnehmen zu müssen, ist uns bisher nicht bekannt geworden.

c) Das Material:

Das gesamte Zubereitungsverfahren sollte nur in Polyvinylbeuteln oder in mit Silikon ausgekleideten Flaschen durchgeführt werden. Die Abnahme- und die Transfusionsnadeln sollen weiltumig und unbenutzt sein, brauchen aber nicht silikonisiert zu werden.

d) Das Antikoagulans:

Das derzeit geeignetste Antikoagulans ist ACD. Es ist dem bislang oft bevorzugten EDTA überlegen, indem es die vorübergehende Anfangssequestration der transfundierten Thrombozyten vermindert (18), die Zahl der überlebenden Thrombozyten praktisch verdoppelt (18), (19) und eine wirtschaftliche Weiterverwendung des restlichen Teilblutes durch die Blutbank ermöglicht (1), (19).

Wichtig ist die Einstellung eines geeigneten pH des Abnahmeblutes. Der physiologische pH von 7,4 erweist sich nicht als vorteilhaft, weil die Thrombozyten bei der Anreicherung im überstehenden Plasma zu irreversibler Agglutination neigen. Diese Agglutination wird bei einem pH unter 6,8 verhindert. Durch Verwendung von saurem ACD (18) im Verhältnis von 40 ml auf 250 ml Blut erzielt man einen pH des Abnahmeblutes von 6,5. Da die Erythrozyten bei ihrer Sedimentation offenbar einen Teil der H^+ -Ionen mit sich führen, steigt der pH des überstehenden thrombozytenreichen Plasmas (TRP) während der Zentrifugation wieder an, bleibt aber meistens unter der kritischen Grenze von 6,8.

Falls das Volumen des gewonnenen TRP die für eine Transfusion üblichen 500 ml übersteigt, wird man die Plättchen durch eine schärfere Zentrifugation sedimentieren und in einem kleineren Plasmavolumen resuspendieren. Damit einem letzteres gelingt, muß der pH sicher unter 6,8 liegen. Er ist zuvor also unbedingt noch einmal zu überprüfen und eventuell zu korrigieren.

e) Die benötigte Ausbeute an Thrombozyten:

Bei der Abnahme sollte man das benötigte Blut in Portionen zu höchstens 250 ml aufteilen. Durch diese Unterteilung wird der Erythrozytenspiegel gegenüber einer Abnahme in 500 ml - Portionen - gleiche Behälterausmaße vorausgesetzt - verdoppelt. Man kann so mit demselben Zentrifugationsgang die Plasma- und Thrombozytenausbeute wesentlich erhöhen. Das ist wichtig, weil eine möglichst vollständige Extraktion der Thrombozyten aus einem zu Verfügung stehenden Blutvolumen die Zahl der benötigten Spender reduziert. Dadurch wird die Transfusion verbilligt und die vollständige Isoimmunisierung des Empfängers u. U. herausgezögert. BOSCH hat mit durchschnittlich $1,2 \times 10^{12}$ Thrombozyten pro Transfusion bei Thrombozytopenikern verschiedener Genese beachtliche Erfolge erzielt (1). Dabei überlebten nur 43 % der Plättchen nach der Transfusion, wahrscheinlich, weil er mit EDTA oder mit ACD ohne Kontrolle des pH arbeitete. Puffert man aber das TRP mittels saurem ACD bei einem pH von 6,5, so kann man mit einer durchschnittlichen Überlebensrate von 80 % rechnen (18), (19). Demnach braucht man also nur $0,6 \times 10^{12}$ bis $0,7 \times 10^{12}$ Thrombozyten pro Transfusion zu fordern, um die von BOSCH erreichte Wirkung zu erzielen. Die Thrombozytenzahl läßt sich unter den o. a. Voraussetzungen und einem angenommenen Durchschnitt von 250000 Thrombozyten/cmm aus zwei bis drei Litern Spenderblut gewinnen.

f) Die Zentrifugation:

Die optimale Zentrifugationszeit des Abnahmeblutes liegt bei 15 min., die optimale Beschleunigung bei 290 g. Die Zubereitung erfolgt normalerweise bei Zimmertemperatur. Während der Zentrifugation bevorzugen manche Untersucher erniedrigte Temperaturen von 4°C bzw. 14°C (19).

Eine weitere Konzentrierung der Zellen aus dem TRP sollte möglichst vermieden werden. Dadurch wird der mechanische Insult der Zellen verringert und die Zahl der nach der Transfusion überlebenden Thrombozyten mehr als verdoppelt (20). Außerdem wird die Verarbeitungszeit wesentlich verkürzt.

Falls das Volumen des TRP aus irgendwelchen Gründen begrenzt werden soll, werden die Thrombozyten 30 min. bei 1000 g sedimentiert und nach Absaugen eines entsprechenden Teiles des thrombozytenarmen Überstandes (TAÜ) im Restplasma durch leichte Bewegungen resuspendiert (1).

3. Zur Anwendung von therapeutischen Thrombozytentransfusionen:

Die Thrombozyten sind jetzt transfusionsbereit. Die Transfusionen müssen nach den Erfordernissen des jeweiligen Empfängers durchgeführt werden (1). Ihr Effekt kann in gewissem Umfang durch Bestimmung des Blutverlustes (21), (22), der Retraktion (23) und durch das Thrombelastogramm (24) erfaßt werden. Sicherste Parameter bleiben aber die Anzahlen der Thrombozyten des Empfängers vor und nach der Transfusion - und nicht zuletzt der klinische Befund! - Thrombozytentransfusionen können mit Erfolg angewendet werden bei Thrombopathien und Thrombopenien, die durch Knochenmarkinsuffizienz oder Störung der Ausschwemmung verursacht sind (1). Bei Thrombozytopenien, die durch einen verstärkten Abbau der Plättchen im Kreislauf bedingt sind - ITP, Hypersplenie, Autoaggression, Allergie und Isoimmunisierung - dürften sie höchstens einen sehr kurzzeitigen Effekt bei bedrohlichen Blutungen und zur Operationsvorbereitung haben (5).

Die Isoimmunisation kann bereits in vivo wirksam sein, wenn sie in vitro mittels der entsprechenden Tests (s. Abschnitt IIIA_{1C}) noch nicht nachweisbar ist. Die Zahl der Thrombozytentransfusionen, nach denen die Isoimmunisation einsetzt, variiert in der Literatur zwischen 2 und 20. Die Isoimmunisierung kann durch vorangegangene Vollbluttransfusionen, Schwangerschaften und Transplantate bereits vor Beginn der Thrombozytentransfusionstherapie eingeleitet worden sein. Sie wird beschleunigt und vervollständigt durch unnötig hohe und unnötig häufige Transfusionen und durch einen beschränkten Spenderkreis. Sie ist vorläufig noch unvermeidbar, weil die augenblicklichen Kenntnisse vom Antigenmuster der Thrombozyten noch nicht ausreichen, um irgendeine Spender-Empfängerkonstellation im voraus als kompatibel oder inkompatibel zu bestimmen.

B THROMBOZYTENTRANSFUSIONEN IN FORSCHUNG UND DIAGNOSTIK

Die Transfusion von unmarkierten Thrombozyten ist für Forschungszwecke ziemlich ungeeignet. Man muß die Thrombozytenzahl des Empfängers um durchschnittlich 50 000/cmm erhöhen und kann damit auch nur bei Thrombozytopenikern über kürzere Zeit hinreichende Auszählungsergebnisse erreichen. Erst seit dem man es gelernt hat, Thrombozyten radioaktiv zu markieren, kann man ihr weiteres Schicksal durch Messung von Blutproben- und Oberflächenaktivitäten recht genau verfolgen. Dabei dürfte bislang die in-vitro-Markierung der in-vivo-Markierung überlegen sein, weil letztere mit P^{32} oder C^{14} durchgeführt wird; diese Isotope unterliegen aber dem allgemeinen Metabolismus und können deshalb bei der Beurteilung von Meßergebnissen zu Irrtümern führen (31).

Den augenblicklichen Standard der in-vitro-Markierung mit ^{51}Cr dürften die Arbeiten von AAS und GARDNER (25) und von ASTER und JANDL (18), (19) gesetzt haben. Wir gehen in Abschnitt IIIA 1 u. 2 näher auf diese Methodik ein und fassen im folgenden erst einmal die Ergebnisse zusammen, die bisher mit ihr erzielt wurden.

1. Zur normalen und pathologischen Physiologie der Thrombozyten

Die Überlebensdauer autologer und isologer Thrombozyten in gesunden Personen wird allgemein mit 8 bis 10 Tagen angegeben (1), (2), (18), (27). Ihr Abbau erfolgt sehr wahrscheinlich nicht zufällig durch Verbrauch sondern altersmäßig bedingt (18). Ihr Abbauort ist vorwiegend die Leber, aber auch die Milz (18). Die vorübergehende Sequestration eines Teiles der Thrombozyten nach der Transfusion erfolgt in der Leber (19). In pathologischen Fällen prädominiert, je nach Heftigkeit des Abbaus, eines dieser beiden Organe als Abbauort: Bei chronischer ITP, bei beginnender Isoimmunisation, bei congestiver Splenomegalie und nach Transfusion relativ kleiner Mengen Antikörper auf eine bestimmte Menge transfundierter Thrombozyten wurden über der Milz die höheren Aktivitäten gemessen (26). Die Leber zeigte stärkere Oberflächenaktivität als die Milz bei akuter ITP, bei idiopathischer Thrombozythämie, bei fortgeschrittener Isoimmunisation, bei starker Schädigung der Thrombozyten während der Transfusionszubereitung und nach Transfusion relativ großer Mengen von Antikörpern auf eine bestimmte Menge transfundierter Thrombozyten (26), (27). Hierbei ist allerdings zu beachten, daß die Relation zwischen den durch Oberflächenmessung gewonnenen Werten und den tatsächlich in den Organen

vorhandenen Aktivitäten - auch für eine normale Aktivität - noch nicht genügend erforscht ist. Es sind zwar verschiedene Ansätze auf diesem Gebiet gemacht worden (26), (27), weitere grundlegende Arbeiten sind aber noch notwendig.

2. Zur splenopathischen Knochenmarkshemmung:

Interessant ist in diesem Zusammenhang die Deutung der Thrombozytopenie bei gleichzeitiger Stauungsmilz. Dieser Plättchenmangel wurde bisher auf einen knochenmarkshemmenden Effekt der vergrößerten Milz zurückgeführt. Die ersten Arbeiten mit markierten Thrombozyten (27), (28), (29) wollten diese These bestätigen. Hierbei wurde allerdings nur die Überlebensdauer der Zellen gemessen, nicht aber das Verhältnis der überlebenden Thrombozyten zur ursprünglich transfundierten Thrombozytenmenge. Diese Methode kann zu Irrtümern verleiten ! Die Untersucher stellten nämlich völlig zu Recht fest, daß die Lebensdauer der überlebenden Thrombozyten normal ist. Aber es entging ihnen, daß sehr wahrscheinlich auch bei ihren diesbezüglichen Versuchen die Zahl der überlebenden Plättchen gegenüber normalen Verhältnissen wesentlich erniedrigt war. ASTER (26), der beide Messungen durchgeführt hat, erhielt einen relativ niedrigen Prozentsatz an überlebenden Thrombozyten bei gleichzeitig hohen Oberflächenaktivitäten über der Milz. Aber erstaunlicherweise bestätigt er die Knochenmarkshemmung durch die Milz, anstatt für eine erhöhte Abfangaktivität der Milz zu plädieren. Er will die reduzierte Überlebensrate bei den markierten Thrombozyten darauf zurückführen, daß die gereizte Stauungsmilz oder ein hypothetischer Plasmafaktor die durch die Chromierung geschädigten Plättchen bevorzugt abbaut. BOSCH (1) hat diesen Punkt ebenfalls sehr gründlich bearbeitet und kommt zu denselben Meßergebnissen wie ASTER. Aber er entkräftigt die Argumente für eine splenopathische Knochenmarkshemmung und zieht den naheliegenden Schluß, daß die Stauungsmilz einen Teil der in normaler Zahl produzierten Thrombozyten und einen im Verhältnis gleichgroßen Teil der markierten Thrombozyten abfängt und wahrscheinlich speichert.

FIRKIN (30) hat dieses Problem in einer anfangs 1966 veröffentlichten Arbeit sowohl durch Markierung, wie durch Auszählung der Thrombozyten in ekto-mierten Milzen untersucht und kommt zu derselben Ansicht wie BOSCH !

3. Zur Differentialdiagnose von Thrombopenien

Die Transfusion markierter Plättchen stellt eine weitere, zuverlässige Möglichkeit dar, zentral und peripher bedingte Thrombozytopenien voneinander zu unterscheiden (29).

Niedrige Leukozyten- und Thrombozyten-Antikörpertiter in Folge von Isoimmunisation, die sich durch die üblichen Tests *in vitro* nicht nachweisen lassen, ergeben Abbaukurven, die gegenüber den normalen charakteristisch verändert sind (26).

Auf Grund theoretischer Überlegungen erwarten wir darüberhinaus noch folgende Möglichkeiten, die Genese von Thrombozytopenien weiter zu differenzieren:

- a. Zeigt sich bei einem Thrombozytopeniker eine normale Abbaukurve der transfundierten auto- oder isologen Plättchen und gleichzeitig ein Knochenmarksausstrich mit gesteigerter Thrombozytenproduktion, so könnte man auf eine Behinderung in der Ausschwemmung der Thrombozyten schließen.
- b. Bei einer im Ausstrich nachgewiesenen Insuffizienz des Knochenmarks erhält man in der Regel eine normale Abbaukurve autologer oder isologer Thrombozyten. Falls die Kurve einen stärkeren peripheren Abbau der Thrombozyten anzeigt, kann die Thrombopenie in diesem Fall primär peripher bedingt sein und erst sekundär zur Erschöpfung des Knochenmarks geführt haben.

4. Zur Indikation der Splenektomie

Thrombopenien, die bislang als idiopathisch eingestuft wurden, können u. U. durch erhöhte Sequestrationstätigkeit der im Tastbefund unauffälligen Milz bedingt sein. BOSCH (1) beschreibt 14 Fälle von ITP - also mit nicht tastbarer Milz - von denen drei splenektomiert wurden. Bei einem von diesen dreien stellten sich nach der Splenektomie normale Thrombozytenzahlen und unverkürzte Lebensdauer ein. Wahrscheinlich hätte man dieses Ergebnis mittels einer Oberflächenmessung, bei der diese Milz relativ erhöhte Aktivitäten gezeigt hätte, voraussagen können.

NAJEAN (27) hat in einer sehr gründlichen Studie gezeigt, daß auf diese Weise die Splenektomie mit wesentlich besserer Aussicht auf Erfolg indiziert werden kann als bisher.

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

A METHODIK UND MATERIAL

1. Die Zubereitung der markierten Thrombozytentransfusionen

Die Thrombozyten wurden nach einer Methode markiert, die im wesentlichen auf Angaben von ASTER (18) und AAS (25) beruht. Hiernach werden die durch zwei leichte Zentrifugationen aus dem antikoagulierten Spenderblut isolierten Plättchen durch eine schärfere Zentrifugation (15 min., 1000 g) sedimentiert und in ca. 15 ml Plasma manuell resuspendiert. Dieses Zellkonzentrat wird 15 min. mit radioaktivem $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ inkubiert. Um das ungebundene ^{51}Cr abzuscheiden, wird das Konzentrat anschließend mit Plasma gewaschen und nochmals scharf zentrifugiert (15 min., 1000 g). Das kontaminierte Plasma wird vom Sediment abgegossen und letzteres in reinem Plasma erneut resuspendiert. Wichtig ist noch die Entnahme von mindestens zwei Meßproben aus der transfusionsbereiten Endsuspension, mit denen die transfundierten Aktivitäten bestimmt werden.

Diese kurzgefaßte Beschreibung des Arbeitsganges soll vor allem verdeutlichen, daß die mechanische Beanspruchung und die daraus resultierende Schädigung der Plättchen bei der Markierung zwangsläufig wesentlich größer ist als bei der bloßen Isolierung für therapeutische Transfusionen, wie sie in Abschnitt II A2 beschrieben wurde. Dieser Unterschied wird bei der abschließenden Diskussion unserer speziellen Untersuchungsergebnisse eine ausschlaggebende Rolle spielen.

Im einzelnen gestaltet sich der soeben geschilderte Vorgang etwas komplizierter und erfordert vor allem eine gewisse Erfahrung und Handfertigkeit. Der Anfänger kann die geforderte Arbeit in der maximal zulässigen Zeit von drei Stunden nur leisten, wenn er sich an eine genaue Vorschrift hält. Diese haben wir auch erstellt. Sie befindet sich mit der dazugehörigen Materialliste im Anhang zu diesem Kapitel, da sie mit ihren sehr speziellen Anweisungen an dieser Stelle den Zusammenhang der übrigen Darstellung stören würde. Im folgenden erörtern wir einzelne Punkte, bei denen wir anders vorgegangen sind als AAS bzw. ASTER oder deren Diskussion, wir für notwendig halten, um eine weitere Standardisierung der Methode zu erreichen.

a) Spender und Empfänger:

Alle Spender und Empfänger waren freiwillige, gesunde Personen im Alter von 21 bis 29 Jahren. Sie hatten nie zuvor Transfusionen erhalten, die weiblichen Probanden waren nie schwanger gewesen.

Eine Ausnahme bildet der Empfänger im Versuch Nr. 5, 6 und 7. Dieser war ein polytransfundierter 64-jähriger Mann. Die Ergebnisse dieser drei Versuche werden deshalb gesondert betrachtet.

b) Die Zählung der Thrombozyten:

Die Thrombozyten wurden im Phasenkontrastverfahren gezählt. Vergleichende Auszählungen aus Fingerbeeren- und Venenblut brachten keine Unterschiede. Die Citrat-Novocain-Verdünnung des Nativblutes im Verhältnis 100 : 1 bringt bessere Ergebnisse als die im Verhältnis 20 : 1.

Die Zahl der Thrombozyten, die durch mehrmalige Verdünnung und Zentrifugation aus einem bestimmten Blutvolumen gewonnen wurde, war durchschnittlich um 20 % höher als die, welche auf Grund der Auszählung im hämolysierten Nativblut für dasselbe Blutvolumen berechnet wurde. Die Angaben der Thrombozytenausbeute bei der Transfusionszubereitung (Teil I der Vorschrift) beziehen sich immer auf die Auszählung im hämolysierten Nativblut, bei der Wiedergewinnung der Thrombozyten (Teil II der Vorschrift) auf den maximalen Thrombozytenextrakt aus der Blutprobe.

c) Die Bestimmung des Thrombozyten- und Leukozyten-Antikörpertiters

Der Thrombozyten-Antikörpertiter wurde mit dem Komplement-Bindungstest nach R. SCHULMAN, vereinfacht durch ASTER, ausgeführt (32). Die Leukozyten-Antikörpertiter wurden mit dem Agglutinationstest von DAUSSET, modifiziert durch J. van LOGHEM, bestimmt (33). Diese Arbeiten übernahm Herr Dr. Thierfelder vom Institut für Hämatologie der GSF, München.

d) Das inkompatible Transfusionsplasma:

Das Volumen des Transfusionsplasmas betrug maximal 50 ml. Bei Verwendung von inkompatiblem Spenderblut brauchten also die Auswirkungen der darin enthaltenen Antikörper nicht beachtet zu werden.

e) Die Portionierung des Spenderblutes:

Wir haben die 500 ml Spenderblut nicht in einem 200-ml-Beutel, sondern zu zwei Portionen in zwei 300-ml-Beuteln gesammelt und zum ersten Mal zentrifugiert. In Vorversuchen, die teilweise in Mikromistern Gläsern, teilweise in Polyvinylbeuteln der Firma Fenwal durchgeführt wurden, hatte sich nämlich gezeigt, daß die Zellausbeute aus einem bestimmten Blutvolumen nicht nur von der Dauer und Beschleunigung der Zentrifugation abhängt, sondern auch von der Form - insbesondere dem Querschnitt - der verwendeten Gefäße (s. Abschnitt IIA2e). Ergebnisse, die in Reagenzgläsern erzielt wurden erwiesen sich nicht als unbedingt prospektiv für Arbeiten mit anderen Behältern. Bei Verwendung von einem 600-ml-beutel befanden sich ca. 45 % der im Ausgangsblutvolumen berechneten Thrombozyten im überstehenden Plasma, bei Verwendung von zwei 300-ml-Beuteln ca. 80 %.

f) Die Einstellung des pH des Abnahmeblutes auf 6,5:

ASTER (18) empfiehlt ein Mengenverhältnis von 90 bis 95 ml saurer ACD-Lösung auf 500 ml Blut, um einen pH von 6,5 zu erhalten. Dadurch wird die Aggregation der Thrombozyten verhindert. Wir haben mit diesem Verhältnis immer einen zu niedrigen pH erzielt. Unterhalb des pH von 6,25 trat dabei eine deutlich verminderte Rückgewinnung der markierten Thrombozyten aus dem Empfängerkreislauf auf, ohne daß etwa die Resuspensionsfähigkeit der Thrombozyten bei der Transfusionszubereitung verschlechtert gewesen wäre. Und zwar war die Ausbeute bei zwei Kontrollfällen mit einem pH kleiner als 6,25 am Tage 1 um 40 % niedriger als bei fünf Vergleichsfällen mit dem pH zwischen 6,30 und 6,53 (s. Abb. 1, S. 17). Unsere ACD-Lösung hatte einen pH von $4,6 \pm 0,05$. Sie mußte im Verhältnis 39 ml auf 250 g Blut verwehdet werden, um den optimalen pH von 6,5 zu erzielen. Wegen der Pufferwirkung der Erythrozyten ist hierbei der Hämatokrit des Spenderblutes zu beachten. Er war bei unseren Untersuchungen durchschnittlich 44 ± 1 .

Der pH von ca. 6,5 muß während der gesamten Transfusionszubereitung beibehalten werden (siehe hierzu Abschnitt IIA2d) !

g) Zur Differentialzentrifugation:

Wir haben das nach der ersten Zentrifugation gewonnene thrombozytenreiche Plasma nur mit 275 g zentrifugiert, um die restlichen Erythrozyten daraus zu entfernen. In entsprechenden Vorversuchen erzielten wir

Abb. 1
 Verminderte Ausbeute bei zwei
 kompatiblen Thrombozytentransfusionen
 mit $pH < 6.25$

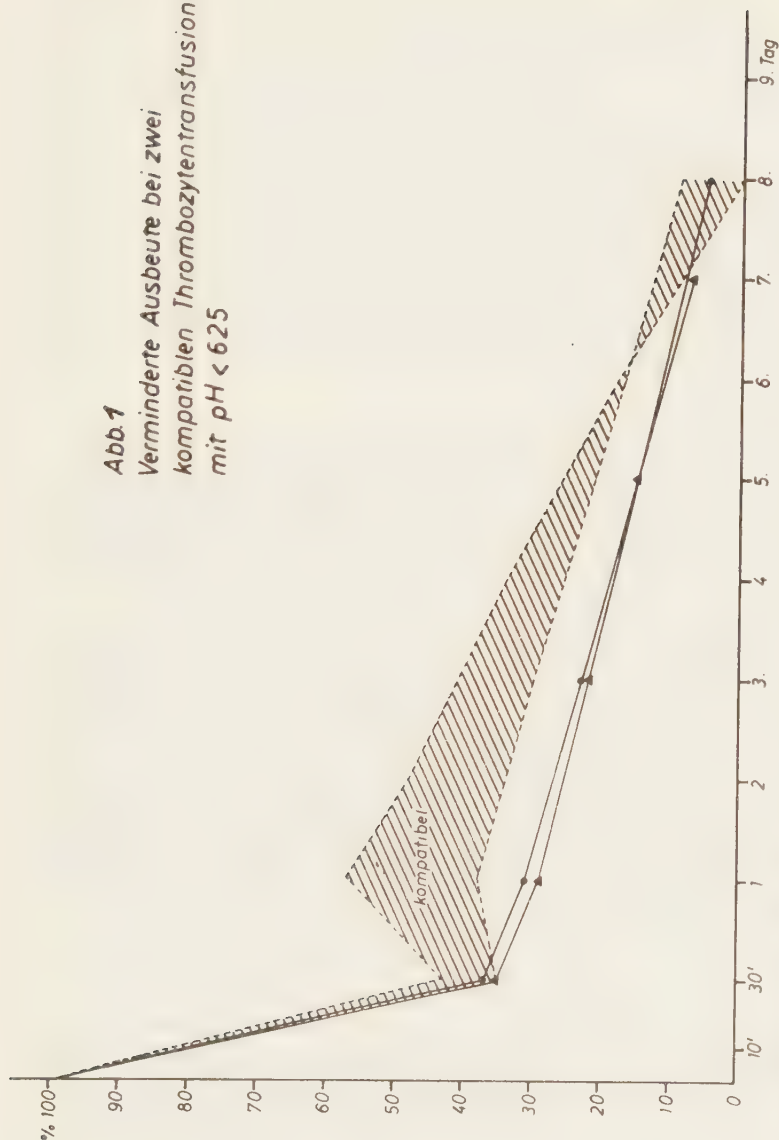


Abb. 1: Die Ausbeute von zwei Thrombozytentransfusionen, die mit einem $pH < 6.25$ zubereitet wurden, liegt deutlich unter dem Normbereich der Transfusionen mit einem pH von 6.5 (schraffierte Fläche).

folgende Ergebnisse:

2. Zentrifugation	Zellausbeute in % der Ausgangsmenge			Erythrozyten-Aktivität in % der Thrombozyten-Aktivität
	Leukos	Erys	Thrombo-	
ohne 2. Zentrifug.	0	0,011	14	16
a 275 g, 5 min.	0	0,0012	45	3
a 400 g, 5 min.	0	0	21	0

Die beste Thrombozytenausbeute erhält man demnach ohne zweite Zentrifugation. Aber die Erythrozyten-Kontamination ist dann relativ hoch. Man darf sich hierbei nicht durch die verhältnismäßig kleine Prozentzahl von 0,011 täuschen lassen. Diese bezieht sich ja auf eine sehr große Ausgangsmenge - i. d. F. auf $1,11 \times 10^{12}$ Erythrozyten in 250 ml Blut. Weiterhin wird ein Erythrozyt, nach unseren Berechnungen, durchschnittlich 55 mal stärker mit ^{51}Cr markiert als ein Thrombozyt. Dadurch betrug die mittransfundierte Erythrozyten-Aktivität ca. 16 % der transfundierten Thrombozytenaktivität. Das ist ein Wert, der sich besonders bei Oberflächenmessungen verfälschend auswirken kann und deshalb nicht tragbar ist.

Die zweite Zentrifugation mit 275 g drückt die Erythrozyten-Kontamination, so daß die mittransfundierte Erythrozytenaktivität nur noch ca. 3 % der Thrombozytenaktivität ausmacht. Die Thrombozytenausbeute wird hierbei zwar auch verringert, ist aber immer noch um durchschnittlich 100 % höher als bei einer zweiten Zentrifugation mit 400 g.

h) Zur Markierung der Thrombozyten:

Zur Markierung mit ^{51}Cr wurden die Thrombozyten in ca. 20 ml Plasma resuspendiert. Da wir auf Grund der in Abschnitt IIIA 1e dargestellten Ergebnisse eine höhere Thrombozytenkonzentration voraussetzen konnten, haben wir die Suspension nur mit $160 \mu\text{C}$ inkubiert, anstatt mit den üblichen 250 bis $300 \mu\text{C}$ (2), (18).

In der transfusionsbereiten Endsuspension waren von diesen $160 \mu\text{C}$ noch

durchschnittlich 40 bis 50 μC vorhanden. Hiervon waren 30 bis 35 μC an Thrombozyten gebunden, der Rest war nicht ausgewaschenes ungebundenes Plasma ^{51}Cr . Nach Aufteilung der Endsuspension ergab sich somit pro Empfänger eine Gesamtbelastung von 20 bis 25 μC .

Wenn man die erhöhte Thrombozytenabschube nicht zum Einsparen von ^{51}Cr benutzt, sondern sogar mit mehr ^{51}Cr inkubiert, so erreicht man eine stärkere Markierung der Plättchen (19). Diese stärkere Markierung wiederum erlaubt es, die Endsuspension in mehrere kleinere Transfusionsvolumina zu unterteilen. Dadurch dürfte, je nach Maßgabe des vorhandenen Plasmas, die Zubereitung von 5 bis 6 markierten Thrombozytentransfusionen aus 500 ml Blut möglich sein. Das ist auch für eine größere Klinik etwa im Rahmen eines "Thrombozytentages" eine ausreichende Zahl.

i) Zur Bestimmung der transfundierten Aktivitäten:

Ein äußerst wichtiger Punkt im gesamten Versuchsablauf ist die richtige Bestimmung der transfundierten Thrombozytenaktivität. Auf sie wird die an den folgenden Tagen wiedergewonnene Thrombozytenaktivität prozentual bezogen.

Weiterhin kann bei Oberflächennmessungen die Bestimmung der mittransfundierten Erythrozyten- und Plasmaaktivität wichtig sein. Anfangs haben wir zu diesem Zweck nur zwei 0,4 ml-Proben aus der transfusionsbereiten Endsuspension entnommen. Diese zeigten aber zum Teil sehr auffällige Unterschiede der in ihnen enthaltenen Aktivitäten. Durch relativ komplizierte Untersuchungen wurde es wahrscheinlich gemacht, daß diese Aktivitätsunterschiede durch winzige Thromben bedingt werden. Diese bestehen aus markierten Thrombozyten und Erythrozyten und können in unterschiedlicher Zahl in den Meßproben auftreten. Dadurch geben sie der einen oder anderen Probe ein Mehr an Aktivität. Diese Thromben sind nicht zu vermeiden. Die praktische Konsequenz dieser Befunde ist, daß jeder verwendete Wert der Mittelwert aus den Meßergebnissen von mindestens zwei 0,4 ml-Proben sein muß. Demzufolge haben wir immer zwei NaCl- und zwei Ammoniumoxalat-Proben entnommen und gemessen.

Die gesamte, ursprünglich transfundierte Thrombozytenaktivität wurde durch 7 % des Körpergewichtes in Gramm zuzuglich des Transfusionsvolumen in ml dividiert, um den Sollwert der Aktivität pro ml Blut des Empfängers zu errechnen.

2. Die Wiedergewinnung und Messung der markierten Thrombozyten aus dem Empfängerkreislauf

Zu diesem Zweck werden die Thrombozyten aus 15 ml Blut möglichst vollständig extrahiert. Die an sie gebundene ^{51}Cr -Aktivität wird gemessen, pro ml Blut berechnet und prozentual auf die ursprünglich pro ml Blut des Empfängers transfundierte Thrombozytenaktivität bezogen.

Die genaue Arbeitsvorschrift und dazugehörige Materialliste ist ebenfalls im Anhang zu diesem Kapitel zu finden. Wir beschränken uns im folgenden auf die Erörterung jener Punkte, die für die Standardisierung dieser Methode wichtig erscheinen.

a) Zum verwendeten Material:

Wir haben mit unsilikonisierten Glasmaterial und Kanülen gearbeitet, weil wir bei vergleichenden Untersuchungen keine Unterschiede in der Zellausbeute feststellen konnten.

Bei der Abnahme der Blutproben wurde an Stelle von EDTA auch saures ACD als Antikoagulum verwendet.

b) Zur Isolierung der Thrombozyten aus der Blutprobe:

Wir haben die Blutprobe dreimal mit 375 g und 7 min. lang zentrifugiert und den thrombozytenreichen Überstand möglichst vollständig abgesaugt, um die im Probenvolumen enthaltenen Thrombozyten möglichst restlos zu extrahieren. Weitere Zentrifugationen brachten keine signifikante Mehrausbeute. Steigende oder fallende Zentrifugationsbeschleunigungen, etwa mit 350 g, 375 g, 400 g oder umgekehrt, wirkten sich nicht aus. Die optimale Ausbeute lag bei den oben angeführten Bedingungen.

Um anschließend die Thrombozytenausbeute aus dem gesammelten thrombozytenreichen Überstand in die 4-ml-Meßprobe zu sedimentieren, wurde 40 min. mit 2000 g zentrifugiert. Wir verloren hierbei ca. 1 % der Thrombozytenausbeute. Die endgültig zur Messung kommenden Thrombozyten stellten also 98 - 100 % der im Ausgangsblutvolumen befindlichen Menge dar. Diese Befunde wurden in den unten aufgeführten Berechnungsmethoden berücksichtigt.

c) Zur Berechnung der wiedergewonnenen Thrombozytenaktivität

Es ist davon auszugehen, daß die Blutprobe 15 ml Blut plus 3 ml ACD enthält. Von diesen 18 ml werden 2 ml, d.h. also $1/9$, abgenommen um die Aktivität von einem ml Gesamtblut zu messen. Dieser Meßwert muß entsprechend mit $15/9 = 1,67$ dividiert werden.

Aus den verbleibenden 16 ml ACD-Blut, die also noch 13,33 ml Nativblut enthalten, werden die Thrombozyten zur Messung ihrer Aktivität extrahiert. Um die Thrombozytenaktivität pro ml Blut zu berechnen, muß der Meßwert also durch 13,33 geteilt werden. Der durchschnittliche Verlust an Thrombozyten durch die verschiedenen Zentrifugationen wird dadurch ausgeglichen, daß man den Meßwert durch den Faktor 0,98 dividiert (ASTER arbeitet hier mit dem Faktor 0,95). Es ergibt sich also ein Gesamtfaktor von 13,0.

Das Thrombozytensediment aus den 13,33 ml Blut wird zur Messung in 4 ml verdünnten Plasmas resuspendiert. Das Plasma selber hat aber auch eine bestimmte Aktivität verschiedener Herkunft. Diese muß noch von dem Meßwert der 4-ml-Probe abgezogen werden. Sie wurde durch Messung der obersten 4 ml des nach der Sedimentation der Plättchen überstehenden Plasmas bestimmt. Dieses Plasma war praktisch thrombozytenfrei.

Wie erwähnt, wird bei der Transfusion in Teil I immer eine gewisse an Erythrozyten gebundene Aktivität mittransfundiert. Andererseits können die Thrombozyten nicht ganz erythrozytenfrei wiedergewonnen werden. Man kann die Erythrozytenaktivität durch Hämolyse, Zentrifugation und Vergleichsmessung bestimmen. War die Erythrozytenaktivität bei der Transfusionszubereitung $< 3\%$ der transfundierten Thrombozytenaktivität, so blieb die wiederentdeckte Erythrozytenaktivität weit unter 1% der Thrombozytenaktivität bzw. unmeßbar klein. Wurde aber eine höhere Erythrozytenaktivität mittransfundiert, so machte sich auch die wiederentdeckte Erythrozytenaktivität in den 4-ml-Meßproben bemerkbar und mußte von dem Meßwert subtrahiert werden.

Der auf diese Weise ermittelte Wert der Thrombozytenaktivität pro ml Blut wurde prozentual auf die ursprünglich pro ml Blut transfundierte Thrombozytenaktivität bezogen. Hierbei wurde zugleich der physikalische Zerfall des ^{51}Cr rechnerisch eliminiert.

Die Formel für die Berechnung lautet:

$$A_{\text{biol}} = \frac{100 \times A_t}{A_o \times F_{\text{phys.}}}$$

- A_{biol} = die Thrombozytenaktivität am Abnahmetag bei nur biologischem Zerfall, d. h. nach rechnerischer Eliminierung des physikalischen Zerfalls. Sie errechnet sich in % der ursprünglich transfundierten Thrombozytenaktivität (A_o).
- A_t = die am Abnahmetag gemessene Thrombozytenaktivität, wie sie aus der ursprünglich transfundierten Thrombozytenaktivität (A_o) durch das Zusammenwirken von physikalischem und biologischem Zerfall entsteht.
- A_o = die ursprünglich transfundierte Thrombozytenaktivität.
- F_{phys} = der Faktor des physikalischen Zerfalls des ^{51}Cr , wie er für den betreffenden Abnahmetag aus der Zerfallskurve des ^{51}Cr abgelesen wird.

Die Verminderung der markierten Thrombozyten bis zum jeweiligen Abnahmetag durch Blutabnahmen an den vorangehenden Tagen ist gering und braucht nicht in Rechnung gestellt zu werden. Es waren nur wenige 1/10 Impulse pro ml Blut und min., die sich im prozentualen Ergebnis auch nach fünf vorangegangenen Abnahmetagen erst an zweiter Stelle hinter dem Komma auswirkten. Da die Ergebnisse sowieso abgerundet wurden, haben wir diese Berechnung vernachlässigt.

d) Die Messung der Thrombozytenaktivität aus dem Vollblut:

Die von uns verwendete Methode basiert auf Angaben von ASTER (18). Sie ist relativ umständlich und zeitraubend. BOSCH (1) hat durch Messung der Aktivität des Vollblutes sehr gute Ergebnisse erzielt. Hierbei muß die Aktivität einer in Abhängigkeit vom Hämatokrit zu bestimmenden Menge thrombozytenarmen Plasmas abgezogen werden. Voraussetzung ist, daß bei der Transfusionszubereitung nur möglichst wenige Erythrozyten radioaktiv markiert werden. Wir haben in 10 vergleichbaren Fällen ähnliche Berechnungen durchgeführt. In drei Fällen mit einwandfreien Voraussetzungen stimmten die so erhaltenen Werte mit denen der isolierten Thrombozyten sehr gut überein (s. Abb. 2, S. 23).

Abb. 2

Vergleich der wiedergewonnenen

Thrombozyten-Aktivität bei Messung

a.) der isolierten Thrombozyten der Blutproben ———

b.) der Gesamtblutprobe - - - -



Abb. 2 zeigt den Vergleich der wiedergewonnenen Thrombozytenaktivität bei Messung der aus der Blutprobe isolierten Thrombozyten (—) und bei Messung der Gesamtblutprobe (- - -) unter Abzug der Plasmaaktivität.

Bei den übrigen wichen viele Werte stärker nach oben und unten ab. Das mag daran liegen, daß unsere Versuchsanordnung ursprünglich nicht auf diese Untersuchung ausgerichtet war. Deshalb waren nicht in allen Fällen der Hämatokrit des Empfängers und die Verdünnung der Thrombozyten-armen Plasmas protokolliert worden. Diese Werte sind aber für die Berechnung unerlässlich. Wir mußten in diesen Fällen mit Durchschnittswerten rechnen. Wenn man diese Fehlerquellen von vornherein vermeidet, gibt es eigentlich nichts, was gegen diese Methode sprechen könnte. Sie ist wesentlich einfacher und benötigt nur die Abnahme von fünf ml Blut. Für die Klinik scheint sie die geeignete Methode zu sein.

Arbeitsvorschrift Teil I

Die Markierung der Thrombozyten

Die Zubereitung der Transfusion von der Blutabnahme bis zur Retransfusion der Thrombozyten soll nicht länger als drei Stunden dauern !

1. Es werden ein Spender und zwei Empfänger bestimmt. Falls kein amtlicher Spenderausweis vorliegt, wird die volle Blutgruppenbestimmung durchgeführt. Zwei Tage vor dem Versuch werden folgende Untersuchungen an dem Spender durchgeführt: Blutbild, Hämatokrit, Lues, Tuberkulose, Hepatitis, Malaria. Er muß vollkommen gesund sein.

Die Empfänger sollen bei vergleichenden Untersuchungen gleich schwer, gleich alt und von gleicher Konstitution sein. Sie sollen noch keine Transfusion erhalten haben bzw. noch nicht schwanger gewesen sein. Auch von ihnen wird zwei Tage vor dem Versuch ein Blutbild gemacht. Mit dem Spender- und Empfängerblut wird die Kreuzprobe durchgeführt.

Sind alle Voraussetzungen erfüllt, so wird der Spender für den Versuchstag auf eine bestimmte Uhrzeit verpflichtet und die Empfänger zwei Stunden 15 min. später. Eventuelle Ersatzleute sind immer vorzubezugen.

2. Es werden folgende Lösungen benötigt:

2 x 100 ml Acid. citric.	0,065 mol	steril und pyrogenfrei
Natr. citric.	0,085 mol	
Dextrose	2 %	
1 x 50 ml wässrige Ammoniumoxalat-Lösung	1 %	
2 x 100 ml isotone NaCl-Lösung		

Das ACD muß so bestellt werden, daß es am Verwendungstage möglichst frisch ist. Von jeder Flasche dieser Lösung wird sofort der pH bestimmt und auf der Flasche notiert. Er muß um $4,6 \pm 0,05$ liegen. Die Lösungen werden im Eisschrank bei $+4^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt, sollen aber bei Versuchsbeginn auf Zimmertemperatur sein.

Es ist Sorge zu tragen, daß am Versuchstage genügend $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ zur Verfügung steht.

3. Das Material laut Materialliste Teil I und II ist auf Vollständigkeit und Funktionstüchtigkeit zu überprüfen. Die Sterilisation wird so angesetzt, daß das Material zu Versuchsbeginn steril und abgekühlt ist. Die Protokollunterlagen sind vorzubereiten. Die Zentrifuge wird vor Versuchsbeginn auf Zimmertemperatur gebracht. Ein Lineal, die Tabelle zur Bestimmung der U/min. und ein Beutel mit Magnesia werden auf der Zentrifuge bereitgelegt.

Zwei alte 300 ml Beutel werden als Gegengewichte auf ein Gesamtgewicht von je 320 g gebracht und bereitgelegt.

Der Counter ist nach Vorschrift zu eichen. Acht Meßgläser sind folgendermaßen zu beschriften:

- | | | | |
|----------------------------|---|-------------------------|---|
| 1. Meßglas mit NaCl-Sed. | 1 | 5. Meßglas mit NaCl-Ü | 1 |
| 2. " " NaCl-Sed. | 2 | 6. " " NaCl-Ü | 2 |
| 3. " " NH_4 -Sed. | 1 | 7. " " NH_4 -Ü | 1 |
| 4. " " NH_4 -Sed. | 2 | 8. " " NH_4 -Ü | 2 |

Der Leerwert N_0 aller Gläser wird je mindestens 5 min. gemessen und im Protokoll notiert. Diese Arbeit läuft neben dem jetzt einsetzenden Versuch. Bis zur Entnahme der vier 0,4-ml-Proben aus den Thrombozytenkonzentraten müssen aber die N_0 -Werte der Gläser 1 - 4 gemessen sein.

Die Waage, mit der das Gewicht der abgenommenen Blutmenge gemessen wird, ist so neben dem Bett des Spenders aufzustellen, daß der Abnahmeschlauch des Fenwalbeutels ohne Spannung frei zwischen Venenpunktionsstelle und Vakuuinfornmel durchhängt. Der Hamolator wird sorgfältig auf die justierte Waage gestellt und zum Vorwärmen in Betrieb gesetzt.

4. Die beiden 300-ml-Beutel Ia und Ib werden mit einer 50-ml-Rekordspritze (steril) über den Nadelkonus des Abnahmeschlauches mit genau 39 ml ACD beschickt. Der Schlauch wird mit einer Fenwalklemme

geschlossen. Dann wird der für amerikanische Nadeln vorgesehene Konus abgeschnitten und ein selbstgefertigtes Verbindungsstück auf das Schlauchende gesetzt, das den Anschluß an eine deutsche 1,8-Flügelkanüle ermöglicht.

Jetzt wird die Klemme vom Schlauch gezogen und die im Beutel befindliche Luft mittels der ACD-Lösung total ausgepreßt. Unmittelbar bevor die ACD-Lösung überfließt, wird der Schlauch mit einer Klemmschere abgeklemmt. Die Schere wird durch eine Klemme ersetzt, und der Beutel wird gewogen. Sein Gewicht wird im Protokoll notiert. Jetzt wird die Klemme wieder durch eine Klemmschere ersetzt, und zwar ca. 15 - 20 cm vom Schlauchende entfernt, um das Aufschieben auf die Punktionskanüle nicht zu behindern. Der Beutel wird auf dem Abnahmebrett sorgfältig in die Vakuumtrommel eingeführt, der Hämolator angestellt, und die Trommel geschlossen. Jetzt wird das Schlauchende an die Stelle der Venenpunktion gehalten und die Waage mittels Tara auf eine glatte Zahl, z.B. 4000, eingestellt. Inzwischen wurde der Blutdruck des Spenders festgestellt und die Stauung im unteren Bereich der Amplitude mit der Staumanschette durchgeführt.

Erst jetzt erfolgt die Venenpunktion mit einer 1,8-Flügelkanüle. Die hierbei verwendete Spritze wird sofort durch das Verbindungsstück am Abnahmeschlauch ersetzt und die Klemmschere aufgemacht. Die Kontinuität der Blutabnahme wird durch Beobachtung der Waagenskala kontrolliert. Von Zeit zu Zeit wird die Vakuumtrommel zwecks besserer Durchmischung der ACD-Lösung und des Blutes auf und abbewegt. Die letzten 10 g Blut werden ausgezählt: Bei 7 wird die Staumanschette geöffnet; bei 9 wird der Hämolator abgestellt; bei 10 wird der Abnahmeschlauch mittels Klemmschere abgeklemmt. Jetzt wird an der Flügelkanüle das Verbindungsstück von Beutel Ia durch das von Beutel Ib ersetzt. Inzwischen wird Beutel Ia aus der Vakuumtrommel entnommen, die Klemmschere sofort geöffnet, damit der Schlauchinhalt noch in den Beutel einfließen kann, und dann der Schlauch mit einer Klemme wieder verschlossen. Der Beutelinhalt wird mit leichten Bewegungen vorsichtig durchmischt. Beutel Ib wird, sobald die Vakuumtrommel frei ist, auf dem Abnahmebrett eingeführt. Die Füllung wird wie bei Beutel Ia gehandhabt. Anschließend werden beide Beutel gewogen und ihre Gewichte im Protokoll notiert. Ist die Blutabnahme nicht auf 250 ± 3 g genau erfolgt, so ist nach einer vorher angefertigten Rechenvorschrift im Protokoll die nachzugebende Menge ACD-Lösung bzw. Blut zu berechnen und mittels steriler Spritze über den inzwischen mit einer

Schere (steril) abgeschnittenen Schlauch nachzugeben. Das Schlauchende wird mit einer Klemme geschlossen, der Beutelinhalt vorsichtig gemischt. Danach werden aus jedem Beutel eine 5-ml-Probe in je ein Röhrchen zur pH-Messung gegeben. Die Röhrchen tragen die Beutelnnummer, der pH wird sofort auf ihnen notiert. Inzwischen werden die beiden Beutel mittels einer 50-ml-Rekordspritze (steril) über ihre Schlauchenden stromlos aufgepumpt und erneut gewogen. Die als Gegenprobe bestimmten Beutel werden entsprechend eingewogen. Stimmt der pH auf $6,5 \pm 0,1$, so werden die Beutel mit Magnesia bestäubt und in die Zentrifugationstrommeln eingeführt. Liegt der pH nicht im geforderten Bereich, so kann eine Korrektur versucht werden, oder der Versuch ist abzubrechen.

5. Beutel Ia und Ib zentrifugieren. 15 min., 275 g. Zentrifuge ständig auf richtige Umdrehungen pro min. und Temperatur kontrollieren.
6. Thrombozytenreiches Plasma (TRP) von Beutel Ia und Ib in 300-ml-Beutel II bringen:
 - a) Beutel Ia vorsichtig aus der Zentrifugationstrommel entnehmen und auf den geöffneten Fenwal-Extraktor hängen. Schlauchende kurz öffnen und Luft ablassen. Schlauch wieder mit Klemme verschließen !
 - b) Stechkonus von Beutel II vorsichtig in mittlere Mündung von Beutel I einführen, nicht zu tief.
 - c) Klemmschere bereithalten und Schlauch von Beutel II bei eventuellem Übertritt von Erythrozyten aus Beutel I vor diesen abklemmen. TRP überpressen, Schlauch von Beutel II möglichst nahe am Stechkonus mit Klemmschere abklemmen, Extraktor feststellen und Stechkonus II aus Mündung von Beutel I ziehen.
 - d) Klemmschere öffnen und Schlauchinhalt in Beutel II laufen lassen. Mit Beutel Ib wie unter a) bis c) verfahren. Schlauch von Beutel II bis auf 5 cm abschneiden und Beutel II steril aufpumpen und mit Klemme verschließen.
7. Beutel II zentrifugieren: 5 min., 275 g.
8. TRP von Beutel II in 300-ml-Beutel III bringen:
 - a) Beutel II auf den geöffneten Fenwal-Extraktor hängen. Schlauchende II öffnen und Luft ablassen. Anschließend wieder mit Klemme verschließen
 - b) Stechkonus von Beutel III in mittlere Mündung von Beutel II einführen und Plasma möglichst vollständig überpressen, aber ohne Erythrozyten-Kontamination. Schlauch von Beutel III mit Klemmschere am Stechkonus abklemmen.

- c) Extraktor feststellen (!) und Stechkonus von Beutel III aus Mündung Beutel II ziehen. Klemmschere am Schlauch öffnen, Schlauchinhalt in Beutel III einlaufen lassen. Beutel III mit 50-ml-Rekordspritze (steril) und Verbindungsstück (steril) über Stechkonus III stramm aufpumpen. Schlauch III am Beutel III mit Klemme abklemmen und Stechkonus III mit Kappe verschließen.
 - d) Beutel II wird aufbewahrt für die Aufnahme des radioaktiven thrombozytenarmen Plasmas aus Beutel III.
9. Erneute Einstellung des pH im TRP auf 6,5:
- a) In einer 3-ml-Probe wird der pH des TRP bestimmt.
 - b) Der pH der Probe wird durch Zugabe von 0,2-ml-Einheiten ACD auf 6,5 eingestellt.
 - c) Inzwischen wird die Menge TRP in Beutel III durch Abzug des Beutel-Leergewichtes vom Bruttogewicht festgestellt.
 - d) Das TRP im Beutel III wird auf den pH von 6,5 eingestellt, indem man ACD im selben Verhältnis wie bei der zur pH-Messung herangezogenen 3-ml-Probe zugibt.
10. Beutel III zentrifugieren: 15 min., 1000 g.
11. Thrombozytenarmes Plasma (TAP) von Beutel III in 300-ml-Beutel IV bringen:
- a) Beutel III auf den geschlossenen Extraktor hängen. Klemme von Schlauch III abnehmen und Luft ablassen, Schlauch wieder mit Klemme verschließen. Stechkonus von Beutel III in mittlere Mündung von Beutel IV einführen.
 - b) Beutel III vom Extraktor nehmen und TAP bis auf ca. 10 ml nach Beutel IV abgießen.
 - c) Schlauch III am Beutel III abklemmen. Thrombozytensatz in Beutel III vorsichtig resuspendieren.
 - d) Stechkonus III aus Mündung Beutel IV ziehen und mit Kappe (steril) verschließen.
12. Markierung der Thrombozytensuspension in Beutel III mit $160 \mu\text{C } ^{51}\text{Cr}$:
- a) Berechnung der ml ^{51}Cr -Lösung, die am Versuchstage die geforderte Aktivität haben.
 - b) Man nimmt Beutel III, eine Tuberkulinspritze (steril), zwei Einmal-Kanülen, eine Kappe (steril), einen Laborwecker und geht zum Markieren in den "heißen Raum". Eine Einmalkanüle wird in die Mündung von Beutel III eingeführt. Die benötigten ml ^{51}Cr werden mit einer Einmal-Kanüle und der Tuberku-

linspritze aus dem ^{51}Cr -Behälter entnommen. Kanüle mit abziehen. Spritzenkolben etwas höher ziehen, um Kanüleninhalt mitanzusaugen. Kanüle abstreifen. Benötigte ml ^{51}Cr in Beutel III injizieren (Sichtkontrolle!). Tuberkulinspritze mit Einmalkanüle aus Mündung III ziehen und diese mit Kappe (steril) verschließen. Beutelinhalt gut durchmischen. Wecker auf 15 min. stellen, Beutel III hinter die Bleiwand legen und alle 5 min. den Beutelinhalt vorsichtig mischen.

13. TAP von Beutel IV bis auf ca. 40 ml in Beutel III zurückbringen:
 - a) Beutel IV auf den geschlossenen Extraktor hängen. Schlauch IV direkt am Beutel abklemmen. Stechkonus von Beutel III in Mündung von IV einführen.
 - b) Klemme von Schlauch III abnehmen, Beutel IV vom Extraktor nehmen und das abzugießende TAP nach Beutel III überleiten.
 - c) Schlauch III am Stechkonus mit einer Klemmschere abklemmen. Beutel IV auf den Extraktor hängen und Stechkonus III aus Mündung IV ziehen. Durch Öffnen der Klemmschere am Schlauch III TAP in den Beutel III laufen lassen. Anschließend Schlauch III mit Klemme wieder verschließen. Kappe (steril) auf Stechkonus III.
14. 30 mg Ascorbinsäure (0,3 ml Cebion) in Tuberkulinspritze (steril) aufziehen und über Einmalkanüle in Mündung III injizieren. Kappe (steril) auf Mündung III und Beutel III (steril) aufpumpen.
15. Beutel III zentrifugieren: 15 min., 1000 g.
16. Radioaktives Waschplasma von Beutel III in leeren Beutel II bringen:
 - a) Beutel III vorsichtig auf den geschlossenen Extraktor hängen. Stechkonus III in Mündung von Beutel II einführen und Klemme von Schlauch III abnehmen. Stechkonus von Beutel IV in mittlere Mündung von Beutel III einführen, aber Klemme am Schlauch belassen.
 - b) Beutel III vom Extraktor nehmen und radioaktives Plasma vorsichtig aber möglichst vollständig nach Beutel II abgießen. Anschließend Beutel III wieder auf den geschlossenen Extraktor hängen und sofort Schlauch IV öffnen und ca. 10 ml TAP von Beutel IV auf den Thrombozytensatz im Beutel III gießen.
 - c) Schlauch III unmittelbar am Beutel III mit Klemme schließen und bis auf 1 cm abschneiden. Den Schlauch III am Beutel II abknoten und Beutel II hinter die Bleiwand legen.
 - d) Thrombozytensediment in Beutel III zuerst in dem wenigen Plasma resuspendieren. Wenn die Suspension homogen ist, das restliche Plasma

aus Beutel IV nachgießen. Schlauch IV aus Mündung von Beutel III ziehen. Sofort den Stechkonus des Thrombozyten-Infusionsgerätes in Mündung III einführen und dieses mittels seiner Rollklemme verschließen.

Jetzt wird der Beutelinhalt sorgfältig durchmischt.

17. Entnahme der Meßproben: Zur Ermittlung der Aktivität im Transfusionsvolumen werden vier 0,4-ml-Proben über den Schlauchrest mittels einer Tuberkulinspritze oder ADH-Pipette (steril) aus Beutel III entnommen und in die entsprechenden Meßgläser gegeben. Ebenfalls wird eine Probe zur Zählung der Thrombozyten entnommen. Vor jeder Entnahme ist die Suspension noch einmal sorgfältig zu durchmischen.
18. Danach läßt man die Endsuspension luftblasenfrei in den Schlauch des Thrombozyteninfusionsgerätes einlaufen und schließt diesen mittels seiner Rollklemme. Der Beutel wird gewogen, um das Volumen der Endsuspension zu bestimmen. Dieses wird zu möglichst gleichen Teilen den beiden Empfängern transfundiert. Im Schlauch des Thrombozytentransfusionsgerätes sind ca. 8 ml. Das restliche Plasma wird tropfenweise aufgeteilt, wobei 13 Tropfen ungefähr 1 ml entsprechen.
19. Zur Bestimmung der injizierten Thrombozytenaktivität bzw. Erythrozytenaktivität werden zwei 0,4-ml-Proben in den Meßgläsern mit je 3 ml isotoner NaCl-Lösung beschickt, die beiden übrigen 0,4-ml-Proben mit je 3 ml 1%iger Ammoniumoxalat-Lösung. Man läßt die Ammoniumoxalat-Lösung ca. 10 min einwirken. Dann werden die vier Proben bei 2000 g 40 min. zentrifugiert. Von jeder Probe werden 1,7 ml thrombozytenarmen Überstandes mittels ADH-Pipette oder Tuberkulinspritze abgesaugt und in die entsprechenden Meßgläser übertragen. Alle acht Proben werden mit je 2,3 ml isotoner NaCl-Lösung aufgefüllt. Die Aktivität der Meßproben wird im Counter mindestens fünfmal 2 min. lang gemessen.

Arbeitsvorschrift Teil II

Die Wiedergewinnung der markierten Thrombozyten

1. Der Counter ist nach Vorschrift zu eichen und ein Protokoll anzufertigen, Drei Meßgläser werden beschriftet mit: NB (Nativblut), TRÜ (thrombozytenreicher Überstand) und TAÜ (thrombozyten-arme Überstand). Die Leerwerte der Meßgläser werden je mindestens 5 min. lang gemessen.
2. Entnahme von 18 ml Citratblut:
 - a) 3 ml frische ACD-Lösung wie in Teil I, in 20-ml-Einmalspritze aufziehen.
 - b) Venenpunktion mit Einmal-Kanüle und Spritze mit 15 ml Blut ad 18 ml füllen. Spritzeninhalt gut durchmischen !
3. 18 ml Citratblut in ein Zentrifugationsglas geben. 2 ml davon mit 2-ml-Vollpipette in das Bohrlochmeßglas NB geben und mit 2 ml physiologischer NaCl-Lösung auf 4 ml auffüllen. Die Probe wird mindestens 30 min. lang im Counter gemessen. Die Messung wird alle 5 min. unterbrochen, um die Probe erneut zu durchmischen.
4. Zu den übrigen 16 ml Citratblut werden 5 ml physiologische NaCl-Lösung zugegeben und gut durchmischt. Das verdünnte Blut wird zentrifugiert: 375 g, 7 min.
5. Das Zentrifugationsglas wird vorsichtig aus der Zentrifuge entnommen und der Überstand mit einer kurzen, gebogenen Lumbalnadel an einer 10-ml-Einmalspritze abgesaugt. Der Überstand wird im Meßglas TRÜ gesammelt. Das Restblut wird danach noch zweimal mit je 5 ml NaCl-Lösung verdünnt, bei 375 g zentrifugiert, und der thrombozytenreiche Überstand abgesaugt.
6. Das Meßglas TRÜ wird scharf zentrifugiert: 40 min., 2000 g.
7. Das Meßglas TRÜ vorsichtig aus der Zentrifuge entnehmen und die obersten 4 ml thrombozytenarmen Überstandes mit 4-ml-Vollpipette absaugen und in das Meßglas TAÜ geben. Dieses wird ebenfalls 30 min. lang im Counter gemessen. Den restlichen TAÜ bis auf 4 ml absaugen (Meniskusgleichstand mit einem anderen Meßglas, das genau 4 ml enthält) und verwerfen.
8. TRÜ-Meßglas mit Parafilm abdecken und Thrombozytensediment durch Schütteln resuspendieren. Mindestmeßzeit der Probe: 30 min.

Materialliste Teil I

Die eingeklammerte Zahl hinter einigen Spezialartikeln ist die Kennziffer für die weiter unten aufgeführten Lieferfirmen.

Zahl	Material	Verwendungszweck
	<u>Glaswaren:</u>	
8	Meßgläser	für Meßproben
3	Gläser	für pH-Messung
2	3ml-ADH-Pipetten	zum Auffüllen d. 0,4ml-Proben
	<u>Spritzen:</u>	
2	50ml-Rekordspritzen (steril)	Luft pumpen und ACD einfüllen
3	10ml-Einmalspritzen	Notfälle; Korrektur des pH
2	amerikanische Spezialspritzen(1)	zur Retransfusion mit KC19
4	Tuberkulinspritzen (steril)	Markierg. ; pH-Korrekt. ; Cebion
4	2ml-Tuberkulinspritzen	0,4ml-Probenentnahme+Ver- arbeitung
	<u>Kanülen:</u>	
2	1,8 Flügelkanülen (steril)	zur Blutentnahme
4	Einmalkanülen	zur Markierung, pH-Korrektur, Cebionzugabe
2	amerik. Kanülen KC 19 (1)	zur Retransfusion
4	Lumbalnadeln (gebogen)	z. Verarbeitg. d. 0,4 ml-Meßproben
	<u>Polyvinyl-Material (1):</u>	
2	alte 300ml-Beutel	als Gegengewichte
5	300ml-Beutel TA2	Beutel Ia, Ib, II, III, IV
2	Verbindungsstücke (selbstgefertigt, steril)	zur Blutabnahme mit 1,8-Kanüle
2	selbstgefertigte Pumpanschlüsse (steril)	zum Aufpumpen der Beutel über Stechkonus
6	Fenwal-Kappen (steril)	Mündungsverschluß
1	Thrombozyten-Infusionsgerät	

Fortsetzung der Materialliste Teil I

Zahl	Material	Verwendungszweck
	<u>Geräte:</u>	
1	pH-Meter	
1	Zentrifuge (2)	
1	Counter (3)	
1	Präzisionswaage (4)	Bluteinwaage
1	Hämolator (1) mit Abnahme- brett	zum Ansaugen des Blutes
1	Blutdruckmeßgerät	
	<u>Chemikalien:</u>	
200ml	ACD-Lösung nach ASTER(steril)	Antikoagulans
50ml	wässrige 1%ige $\text{NH}_4\text{C}_2\text{O}_4$ -Lösg.	zur Erythrozyten-Hämolysse
50ml	physiol. NaCl-Lösung	zum Auffüllen der Proben
160 μC	$\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ (5)	
30mg	Ascorbinsäure (Cebion)	zur Reduktion d. ungebund. ^{51}Cr
	Magnesia	als Gleitmittel für die Beutel
	<u>Medikamente:</u>	
	Leukoplast	
	Tupfer	
	Mull	
	Jodtinktur	
	Anti-Kollaps-Mittel	
	<u>Kleingeräte:</u>	
1	Lineal	
6	Fenwal-Klemmen	
3	Klemmscheren	
1	Fenwal-Extraktor (1)	zum Überpressen d. TRP
1	Schere	
1	Laborwecker	
	Protokollunterlagen	
1	Fettstift	

Lieferfirmen:

- (1) Travenol International, 8 München 15, Landwehrstr. 64a
- (2) Martin Christ, Osterode (Harz)
- (3) Deutsche Picker GmbH, 8 München 13, Schellingstr. 55;
verwendet wurde ein Spectroscaler IIIA Cat. No. 600-430
Bohrlochmeßgerät Picker Modell 610502
- (4) Firma Mettler; verwendet wurde eine Präzisionswaage mit Höchstge-
wicht 10 kg
- (5) Höchst AG, Frankfurt/Main.
Die spezifische Aktivität des verwendeten ^{51}Cr war größer als
50 mCi/mg.

Materialliste Teil II

Zahl	Material	Verwendungszweck
3	Meßgläser	für NB, TRÜ, TAÜ
1	25ml-Zentrifugenglas	zur Zentrifug. des Citratblutes
1	5ml-Vollpipette	zur Zugabe von NaCl-Lösung
1	4ml-Vollpipette	für 4ml-TAÜ-Probe
2	2ml-Vollpipetten	für 2ml-NB-Probe u. Zugabe von NaCl-Lösung zu NB
1	20ml-Einmalspritze	für Blutentnahme
2	10ml-Einmalspritzen	zum Absaugen von TRÜ und TAÜ
1	Einmalkanüle Chrom-nickel-Stahl 18/8	für Blutabnahme
2	Lumbalnadeln (gebogen)	zum Absaugen v. TRÜ und TAÜ
1	Gamma-Strahlen-Zählgerät	
1	Zentrifuge (Mindestbeschleunigung = 2000 g)	
50ml	ACD-Lösung nach ASTER	als Antikoagulans
50ml	isoton. NaCl-Lösung	zur Verdünnung des Blutes
	Leukoplast	
	Mull	
	Tupfer	
	Jodtinktur	
1	Fettstift	
1	Stauschlauch	
1	Schere	
	Parafilm "M" (R)	zum Verschließen der Meßgläser

B ERGEBNISSE

Abbildung 3 (Seite 37) zeigt die Überlebenskurven markierter Thrombozyten. Wir haben fünf ABO-kompatible und sieben ABO-inkompatible Transfusionen ausgesucht, die in ihren Voraussetzungen bezüglich Verarbeitungszeit und pH des Abnahmeblutes annähernd übereinstimmten, so daß ihr Vergleich erlaubt sein dürfte.

1. Kurvenverlauf

Der Kurvenverlauf der beiden Gruppen ist deutlich unterschieden. Schon der Abfall in den ersten 30 min. bringt für die inkompatiblen Transfusionen in den meisten Fällen etwas niedrigere Werte als für die kompatiblen. Von da an steigt die Ausbeute bei den kompatiblen Fällen innerhalb der nächsten 24 Stunden wieder leicht an. Bei den inkompatiblen Transfusionen fällt sie weiterhin ab, allerdings weniger steil als anfänglich.

In Abbildung 4 (Seite 38) wurden die Werte im halblogarithmischen Maßstab aufgetragen. Hiernach stellen die Kurven in Abbildung 3 keine e-Funktionen dar. Der Abbau der Thrombozyten dürfte also altersmäßig bedingt sein und nicht durch zufälligen Verbrauch. Diese Ansicht vertreten zur Zeit die meisten Untersucher.

2. Lebensdauer der Thrombozyten

Die mittlere Lebensdauer der Thrombozyten betrug bei den ABO-kompatiblen Transfusionen 9,7 Tage. Die 2-sigma-Grenzen liegen bei $9,7 \pm 0,9$ Tagen. Die ABO-inkompatiblen Thrombozyten kamen nur auf einen Schnitt von 9,1 Tagen mit den 2-sigma-Grenzen bei $\pm 1,4$ Tagen. Immerhin liegen sie damit noch im unteren Normbereich der kompatiblen Transfusionen.

3. Die Höhe der wiederentdeckten Thrombozytenaktivität

Die kompatiblen Fälle ergaben die höchste Ausbeute ca. 20 bis 24 Stunden nach der Transfusion, d.h. bei der zweiten Abnahme. Sie betrug durchschnittlich 49 % (von 38 % bis 57 %). Das schließt nicht aus, daß in einem bestimmten Zeitraum vor oder nach dieser Abnahme noch eine größere Ausbeute meßbar gewesen wäre. Wir haben uns mit unseren Abnahmezeiten weitgehend nach Angaben in der Literatur (1), (18) gerichtet, um Vergleichsmöglichkeiten mit den dort angegebenen Werten zu erhalten.

Abb. 3

Wiederentdeckte Thrombozyten-Aktivität in % der
ursprünglich transfundierten Thrombozyten-Aktivität

----- kompatible Transfusionen

— inkompatible

Kurve	Blutgruppen
1	A ₁ → A ₁
2	A ₁ → A ₁
3	A ₃ → B
4	A ₁ → O
7	AB → AB
8	A ₁ → A ₁
9	B → A ₂
10	A ₁ → B
12	B → A ₂
14	B → A ₂
16	A ₁ → B
17	A ₁ → A ₁

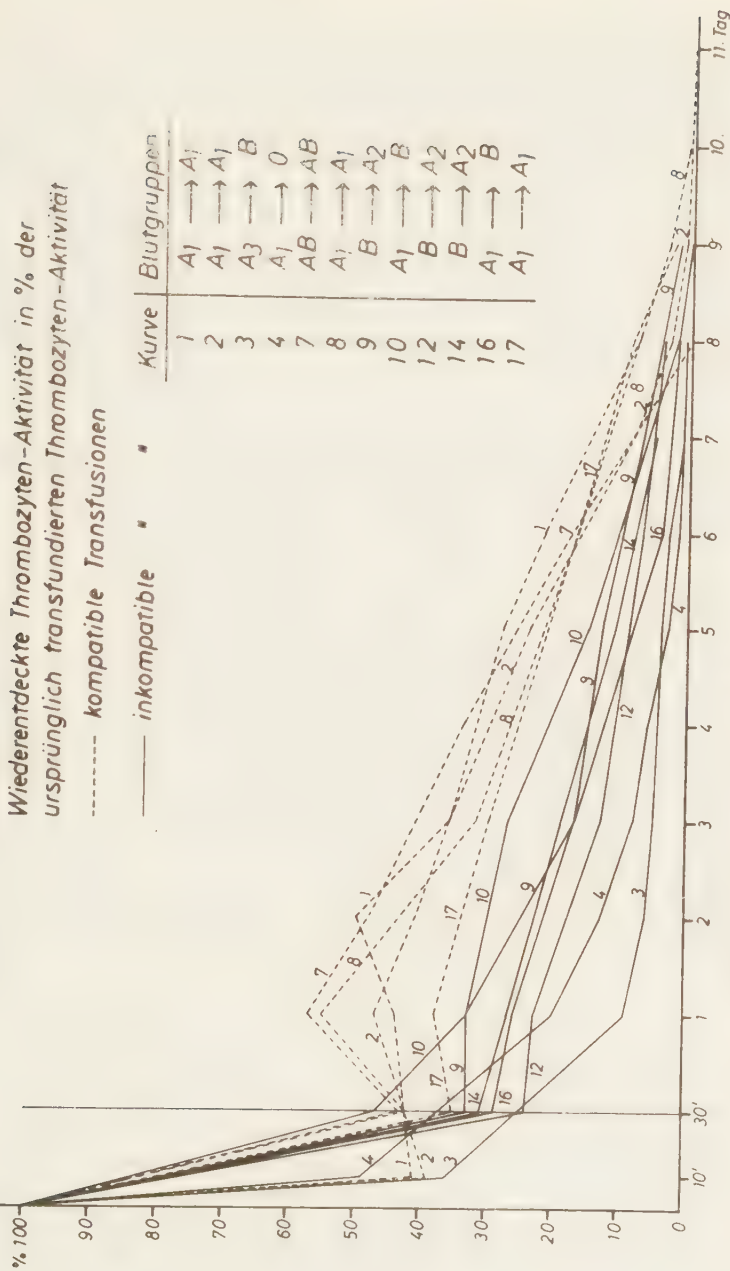


Abb. 3: Wiederentdeckte Thrombozyten-Aktivität in % der ursprünglich transfundierten Thrombozyten-Aktivität
----- kompatible, — inkompatible Transfusionen

Abb. 4
Halblogarithmische Auftragung
der Kurven aus Abb. 3

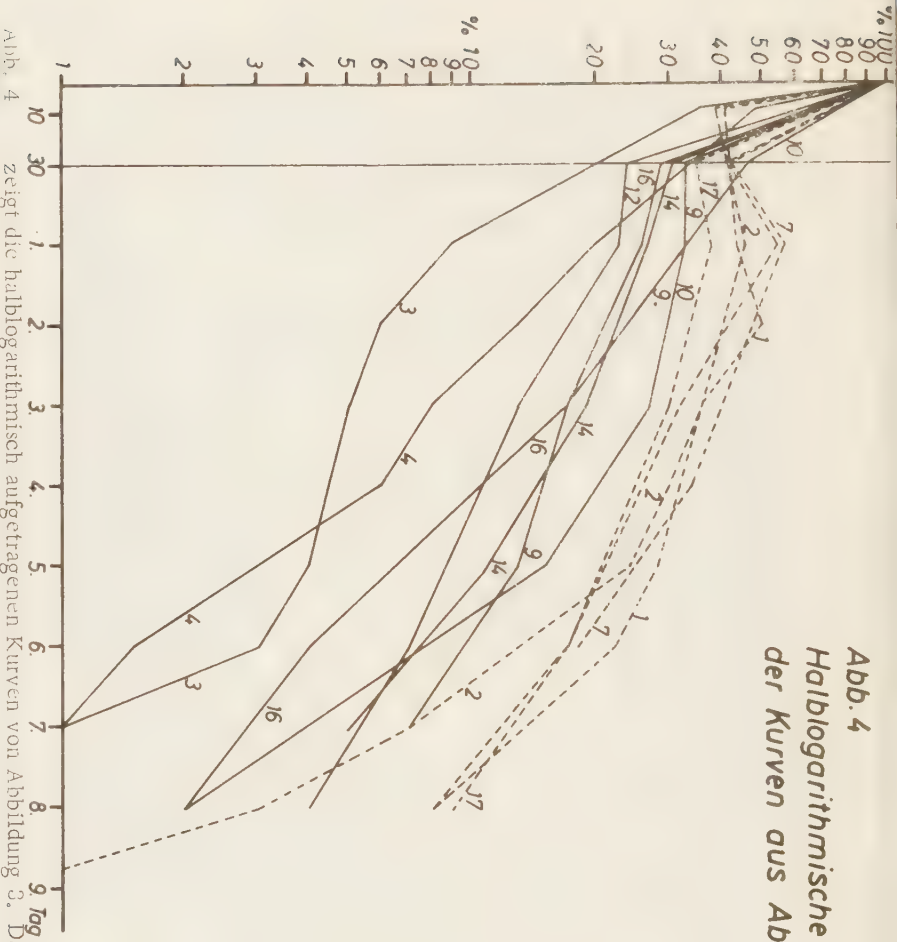


Abb. 4 zeigt die halblogarithmisch aufgetragenen Kurven von Abbildung 3. Da sie keine Geraden darstellen, sind die Kurven in Abbildung 3 keine e-Funktionen.

Bei den inkompatiblen Fällen war die Thrombozytenaktivität der zweiten Abnahme nach 27 min. immer kleiner (in einem Fall gleichgroß) als die erste Abnahme nach 10 bzw. 30 min. Sie betrug durchschnittlich 23 % (von 8 % bis 33 %). Gegenüber der Ausbeute bei den kompatiblen Transfusionen war sie also um 53 % erniedrigt.

Wir haben die Signifikanz der beiden Gruppen am ersten und am siebenten Tag berechnet. Dabei war $c_{\text{Tag1}} = 4,94$ und $p < 0,01$ bzw. $c_{\text{Tag7}} = 4,20$ und $p < 0,01$. Das heißt, die Wahrscheinlichkeit, daß die Meßwerte der kompatiblen und der inkompatiblen Gruppe an diesen Tagen nur zufällig voneinander abweichen, ist äußerst gering. Dasselbe gilt für den dazwischen liegenden Zeitraum.

Die Integration der einzelnen Funktionen $A_t = f(t)$ ergab die Gesamtausbeute A vom Tage 1 bis zum Abbautag der letzten Thrombozyten. Aus der Summe der kompatiblen bzw. der inkompatiblen Gesamtausbeuten wurde der Mittelwert A_K bzw. A_{ik} gebildet. A_K war ca. 2,5 mal größer als A_{ik} .

a) Die Auswirkung des Antikörper-Titers auf die "Recovery"

Wir untersuchten die Frage, ob die Höhe des Antikörper-Titers auf den Kurvenverlauf Einfluß nimmt. In der Regel findet man (34), daß die Anti-A-Titer der Blutgruppe B und der Blutgruppe O höher sind als der Anti-B-Titer der Blutgruppe A. Weiterhin, daß der Anti-A-Titer der Blutgruppe O durchschnittlich höher ist als der der Blutgruppe B. Dementsprechend bildet auch eine B-in-A₂-Transfusion (Kurve 9 in Abb. 3, Seite 37) die obere Grenze des Normbereichs der inkompatiblen Kurven; und eine A₃-in-B-Transfusion (Kurve 3 in Abb. 3, Seite 37) die untere Grenze. Aber nicht alle erhaltenen Kurven ordnen sich nach diesen Richtlinien ein. Das mag u. a. auch an den individuell verschieden hohen Titern liegen, die im Einzelfall nicht bestimmt wurden.

b) Auswirkung des Antigentiters auf die "Recovery"

Weiterhin haben wir untersucht, ob die transfundierte Antigenmenge - repräsentiert durch die transfundierte Thrombozytenzahl - den Antikörper-Titer entsprechend ihrer Höhe schwächt oder gar erschöpfen kann. Im Bereich der von uns transfundierten Mengen scheint das nicht der Fall zu sein. Wir haben u. a. 18 Stunden vor der markierten Transfusion mit $ca. 47 \times 10^9$ Thrombozyten eine unmarkierte Vortransfusion mit $ca. 66 \times 10^9$ Thrombozyten durchgeführt. Die resultierende Kurve lag aber keineswegs besonders erhöht (siehe Abbildung 6).

4. Zur Frage der Unverträglichkeitserscheinungen bei inkompatiblen Thrombozytentransfusionen

Es werden verschiedene Unverträglichkeitssymptome nach Thrombozytentransfusionen bei isoimmunisierten Empfängern beschrieben (26), (28), (35). Art und Stärke der Reaktionen variieren individuell erheblich und sind offenbar von der Höhe des Antikörper-Titers unabhängig. Sie können auch ganz ausbleiben. So haben wir beispielsweise einem isoimmunisierten 64jährigen Mann ca. 60×10^9 Thrombozyten in 40 ml Plasma innerhalb von 5 min. transfundiert. Dies geschah zweimal im Abstand von 14 Tagen. Die Plättchen wurden - wahrscheinlich unter Einwirkung der nachgewiesenen Thrombozyten- bzw. Leukozyten-Antikörper - innerhalb von 10 bis 30 min. total sequestriert, ohne daß sich irgendwelche subjektiven oder klinischen Symptome zeigten (siehe Abb. 5, Seite 42).

Unverträglichkeitserscheinungen nach ABO-inkompatiblen Thrombozytentransfusionen sind bisher nicht beschrieben worden. Wir haben bei 12 ABO-inkompatiblen Transfusionen je maximal 65×10^9 Thrombozyten transfundiert. Von diesen Zellen wurden gut 75 % innerhalb der ersten 30 min. nach der Transfusion irreversibel sequestriert, nachdem sie sehr wahrscheinlich eine Antigen-Antikörper-Reaktion mitgemacht hatten. Niemals zeigten sich irgendwelche Unverträglichkeitssymptome. Falls diese überhaupt im Anschluß an eine Reaktion zwischen Thrombozyten und A- bzw. B-Antikörpern auftreten, haben wir mit 50×10^9 Thrombozyten offenbar noch nicht die Grenze erreicht, wo sie sich bemerkbar machen. Diese Grenze müßte bestimmt werden, falls ABO-inkompatible Thrombozyten tatsächlich in therapeutischen Thrombozytentransfusionen verwendet würden.

C DISKUSSION

1. Die Auswirkung der mechanischen Schädigung der Thrombozyten

Serologische Untersuchungen (36), (37) haben gezeigt, daß Thrombozyten u. a. A- und B-Antigene haben. Offensichtlich ist aber zumindest ein Teil dieser A- und B-Antigene von Natur aus für die entsprechenden Antikörper nicht erreichbar. Jedenfalls gelangen die Agglutinations- und Absorptions- teste, die dem Nachweis dieser Antigene dienen sollten, nur mit gewaschenen Thrombozyten. Unvorbehandelte, in Plasma belassene Plättchen brachten negative (37) oder weniger gute (38) Ergebnisse. Dieses Bild der thrombozytären A- und B-Antigene spiegelt sich auch in unseren Kurven wieder: Wenn die A- und B-Antigene ohne weiteres den A- und B-Antikörpern zugänglich wären, dürfte man ähnliche Abbaukurven erwarten wie die Kurven I und II in Abbildung 5 (Seite 42).

Hier haben wir bei einem isoimmunisierten Morbus Osler (106 Transfusionen) drei markierte Thrombozytentransfusionen durchgeführt. Kurve I zeigt das Ergebnis mit Spenderthrombozytose, gegen die in vitro ein Thrombozyten-Antikörpertiter des Empfängerblutes von 1 : 16 nachgewiesen worden war.

Kurve II zeigt den Abbau der Thrombozyten bei einem in vitro nachgewiesenen Leukozyten-Antikörpertiter von 1 : 2 im Empfängerblut. Thrombozytenspezifische Antikörper konnten in diesem Fall mit der entsprechenden Methode (32) nicht nachgewiesen werden.

Kurve III ist die völlig normale Abbaukurve der autologen Thrombozyten bei demselben Empfänger.

Ein derart schneller und totaler Abbau, wie er in Abbildung 5 demonstriert wird, ist bei den thrombozytär ABO-inkompatiblen Transfusionen nicht eingetreten - zumindest nicht für alle transfundierten Thrombozyten -, obgleich die A- bzw. B-Antikörpertiter mit 1 : 16 bis 1 : 128 (34) durchschnittlich höher liegen als die o. a. Thrombozyten- und Leukozyten-Antikörpertiter. Andererseits bleibt die ABO-Unverträglichkeit nicht ohne Auswirkung: Die inkompatiblen Kurven liegen signifikant niedriger als die kompatiblen. Dieses Ergebnis scheint der Hypothese LUNDEVALLS (39) zu entsprechen, daß "die A- bzw. B-Antigene sich nicht ausschließlich auf der Oberfläche der Thrombozyten befinden". In diesem Sinne bietet sich folgende Deutung für den unterschiedlichen Abbaumechanismus ABO-

Abb. 5
 Wiederentdeckte Thrombozyten-Aktivität bei
 I. Thrombozyten-A.K.-Titer 1:16 im Empfängerblut
 II. Leukozyten-A.K.-Titer 1:2 " " "
 III. autologer Transfusion

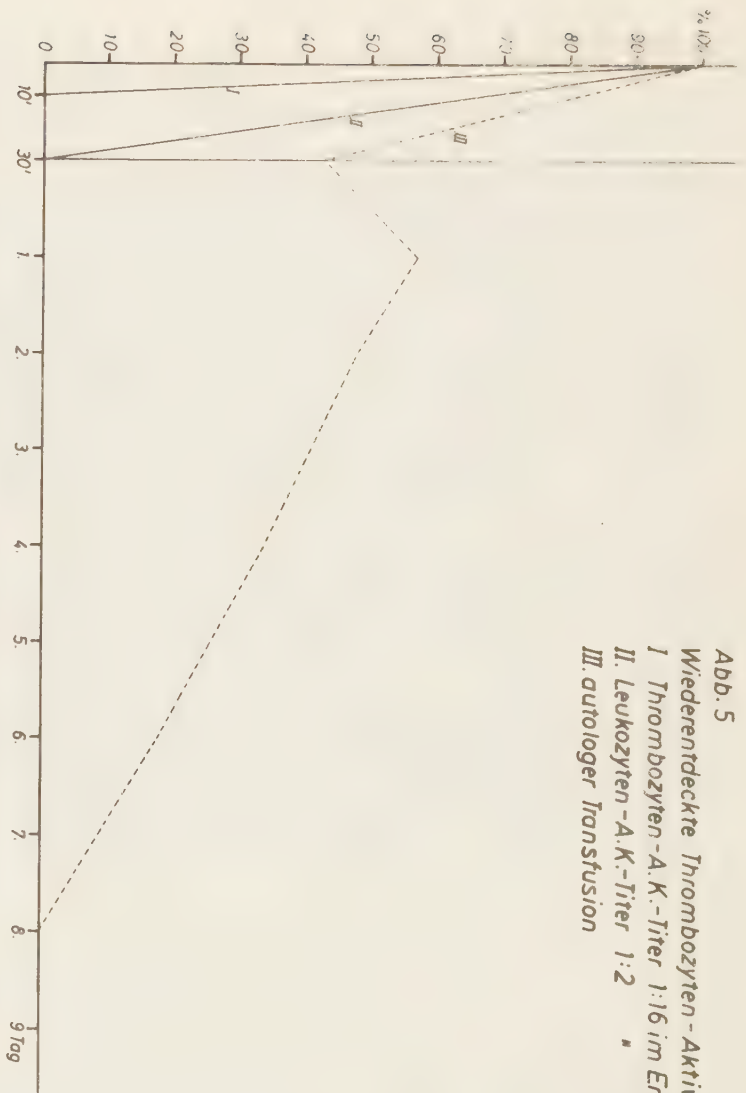


Abb. 5 zeigt den schnellen Abbau transfundierter Thrombozyten im Kreislauf eines isommunisierten Empfängers (Kurve I und II) im Vergleich zu einer normalen Abbaukurve (III).

Abb. 6

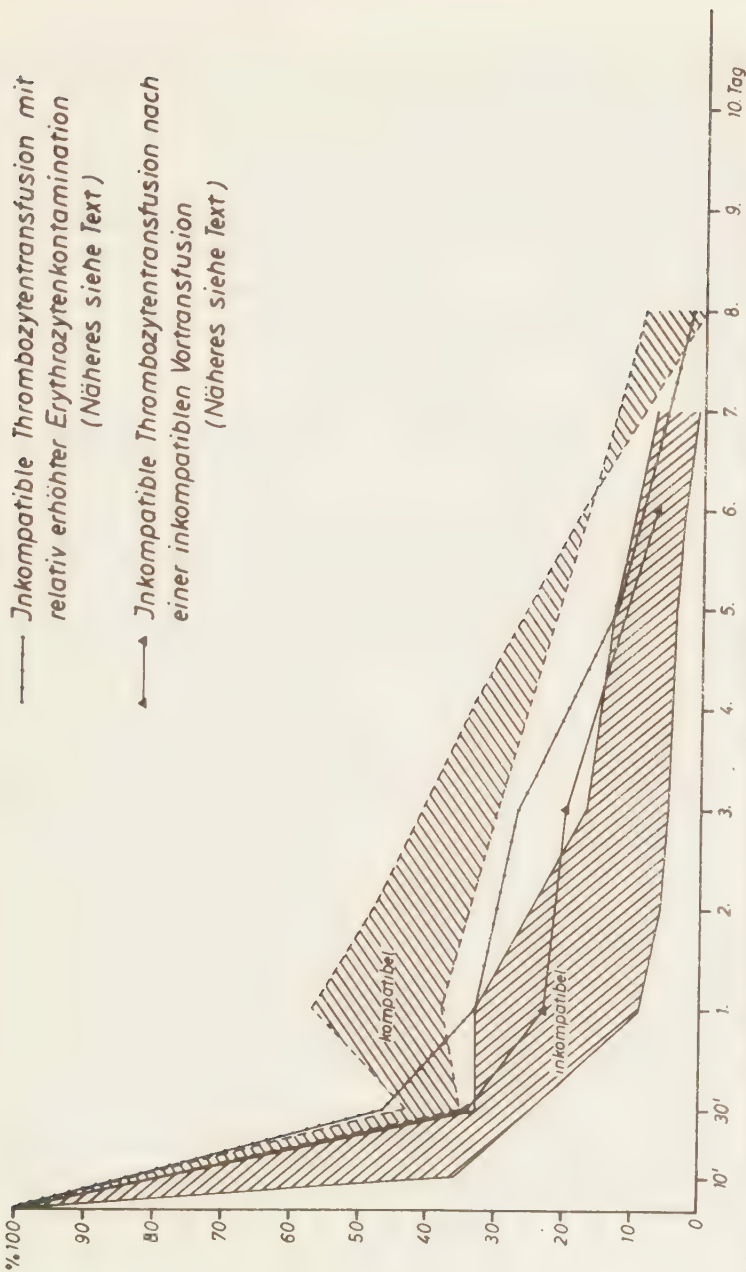


Abb. 6

zeigt a), daß eine erhöhte Erythrozyten-Kontamination bei inkompatiblen Thrombozytentransfusionen keineswegs den Abbau der Thrombozyten verstärkt. Die Kurve (—) liegt sogar an der oberen Grenze des Normbereichs inkompatibler Transfusionen; b) daß der A-, B-Antikörper durch Vortransfusion nicht so geschwächt werden kann, daß eine nachfolgende inkompatible Transfusion weniger stark abgebaut wird. Die Kurve (▲—▲) liegt nicht über dem Durchschnitt der inkompatiblen Transfusionen ohne Vortransfusion.

kompatibler und inkompatibler Thrombozyten an; Die Plättchen werden während der Transfusionszubereitung geschädigt. Hierbei bilden sich mit fließendem Übergang alle Schädigungsstufen von schwer über mittelstark bis leicht oder gar nicht geschädigt aus.

Die schwergeschädigten Thrombozyten werden bei den kompatiblen und inkompatiblen Transfusionen sofort durch Leber und Milz für immer aus dem Kreislauf gezogen. Dieser Anteil bewirkt den von allen Untersuchern beschriebenen, mehr oder minder starken anfänglichen Abfall der Kurven.

Den mittelstark bis leicht geschädigten Thrombozyten ergeht es bei ABO-kompatiblen Transfusionen anders als bei ABO-inkompatiblen ! Bei den kompatiblen Transfusionen werden sie auch von der Leber sequestriert. Aber zumindest ein Teil von ihnen wird wieder in den Kreislauf entlassen, wahrscheinlich, nachdem sie in einer entsprechenden Kontrolle durch die Sequestrationsorgane als qualitativ noch ausreichend beurteilt wurden. Sie bewirken den Wiederanstieg der kompatiblen Kurven innerhalb der ersten 20 bis 24 Stunden nach dem anfänglichen Abfall. Bei den inkompatiblen Thrombozyten sind die A- und B-Antigene der mittelstark bis leicht geschädigten Fraktion für die im Empfängerserum wartenden A- und B-Antikörper leichter zugänglich geworden. Es erfolgt, zumindest bei einem Teil, die Reaktion, die sie quantitativ so verschlechtert, daß sie irreversibel sequestriert werden ! Deshalb ist bei den inkompatiblen Kurven kein Wiederanstieg nach dem anfänglichen Abfall zu messen gewesen.

Die leicht oder gar nicht geschädigten Thrombozyten, die nicht von den Antikörpern attackiert werden, überleben bei den inkompatiblen Transfusionen genau wie bei den kompatiblen. In dieser überlebenden Fraktion befinden sich offenbar alle Altersklassen. Für die zum Zeitpunkt der Transfusion ältesten Plättchen läßt sich das allerdings nicht sicher sagen.

Die Tatsache, daß die durchschnittliche Thrombozytenlebensdauer bei den ABO-unverträglichen Transfusionen nur den unteren Normbereich der kompatiblen erreicht, steht ebenfalls im Einklang mit dieser Theorie: Der gealterte Thrombozyt ist ab einem bestimmten Zeitpunkt so geschädigt, daß die Antikörper im inkompatiblen Kreislauf mit seinen Antigenen reagieren können. Es erfolgt die sofortige Sequestration, während der Thrombozyt im kompatiblen Kreislauf auch noch nach Erreichen dieses Alters die Chance hat, einige Zeit zu überleben.

2. Die Auswirkung von mittransfundenen Erythrozyten oder "A-Substanz"

ASTER, der sich in einer Studie mit demselben Problem auseinandersetzt (19), schlägt u. a. folgende Deutung vor: Die Thrombozyten werden in Folge einer Reaktion geschädigt, die zwischen mittransfundenen Erythrozyten oder "A-Substanz" und den Antikörpern des Empfängers stattfindet. Er konnte in einem Fall durch Infusion von "A-Substanz", die aus Schweinemagen gewonnen wurde, eine gegenüber normal um ca. 25 % gesenkte Thrombozytenausbeute nachweisen (19). Die Existenz dieser "A-Substanz" in der Thrombozytentransfusion dürfte aber vorläufig noch hypothetisch sein.

Eine Erhöhung der mittransfundenen Erythrozytenkonzentration blieb wirkungslos.

Auf Anraten von serologischer Seite hatten wir auch in einem Versuch die Zahl der inkompatiblen Erythrozyten stark erhöht. In 33,6 ml Transfusionsvolumen wurden ca. 10 200 Erythrozyten pro cmm - gegenüber sonst 200 bis 1000 Erythrozyten pro cmm - und $1,24 \times 10^6$ Thrombozyten pro cmm transfundiert. Die Abbaukurve dieses Versuches ist in Abb. 6 (Seite 43) dargestellt.

Sie hatte wider Erwarten die höchsten Ausbeuten aller inkompatiblen Kurven, so daß man sogar vermuten könnte, daß die mittransfundenen Erythrozyten - etwa durch Abfangen der Antikörper - den Abbau der Plättchen zumindest anfänglich behindern.

3. Die Auswirkung des Bezugswertes für die "Recovery"

Es ist schwer zu beurteilen, warum andere Untersucher zum Teil keine Unterschiede zwischen den Abbaukurven ABO-verträglicher und unverträglicher Thrombozyten erhalten haben. Bei BOSCH (1) liegt das wahrscheinlich nur an der Wahl des Bezugswertes. Er hat bei der Untersuchung dieses Problems die wiederentdeckte Thrombozytenaktivität prozentual auf den Wert vom ersten Abnahmetag bezogen und nicht auf die ursprünglich transfundierte Aktivität. Dadurch kommt das charakteristische Geschehen während der ersten 24 Stunden nicht zum Ausdruck. Die kompatiblen wie die inkompatiblen Kurven fallen unter diesen Umständen alle gleichmäßig innerhalb von 8 bis 10 Tagen von 100 % auf 0 % ab.

4. Folgerungen aus den vorliegenden Ergebnissen

a) für Thrombozytentransfusionen zu diagnostischen Zwecken

Wenn die Transfusionen mit der von uns verwendeten Methode hergestellt werden, überlebt bei den inkompatiblen Thrombozyten ein kleinerer Prozentsatz als bei den kompatiblen. Die jeweiligen Meßkurven sind also nicht ohne weiteres vergleichbar. Die Meßarbeit wird bei Verwendung ABO-inkompatibler Thrombozyten wesentlich vermehrt, weil sich die Meßzeiten bei niedrigeren Aktivitäten entsprechend verlängern. Diese beiden Gründe sprechen gegen eine Verwendung von ABO-inkompatiblen Thrombozyten zu diesem Zweck.

b) für Thrombozytentransfusionen zu therapeutischen Zwecken

Es erscheint uns noch nicht gerechtfertigt, dieses negative Ergebnis auch auf Thrombozytentransfusionen zu therapeutischen Zwecken zu übertragen. Diese Transfusionen werden normalerweise nach einer wesentlich schonenderen Methode zubereitet (s. hierzu Abschnitt II A 2 a-f). Es ist denkbar, daß die Plättchen dabei so wenig geschädigt werden, daß die Antikörper bei einer inkompatiblen Transfusion nur einen sehr kleinen Teil der Thrombozyten angreifen kann und die Zahl der überlebenden Thrombozyten nicht wesentlich unter der bei kompatiblen liegt.

Der Nachweis dieser Behauptung ist uns noch nicht gelungen, weil es bislang kein schonenderes Verfahren, als das von uns verwendete, gibt, Thrombozyten meßbar zu markieren. Als Methode der Wahl verbleibt hier wahrscheinlich nur die Auszählung von transfundierten Plättchen bei thrombozytopenischen Empfängern.

Wegen der eingangs dargelegten Bedeutung, die dieses Problem bei der Zubereitung von therapeutischen Thrombozytentransfusionen hat, erscheint die Aufgabe lohnend.

IV ZUSAMMENFASSUNG

Wegen der ständig wachsenden Bedeutung von Thrombozytentransfusionen für Diagnose und Therapie interessiert die Frage, ob die in den Thrombozyten nachgewiesenen A- bzw. B-Antigene sich bei Transfusionen in Empfänger mit entgegengesetzter Blutgruppe auswirken oder nicht. Zur Beantwortung dieser Frage haben wir menschliche Thrombozyten durch Differentialzentrifugation isoliert, durch Inkubation mit radioaktivem Chrom markiert und ABO-kompatibel und -inkompatibel bei gesunden Probanden transfundiert. Die an die transfusionsbereiten Thrombozyten gebundene Aktivität wurde gemessen, um die pro ml Blut des Empfängers transfundierte thrombozytengebundene Aktivität zu berechnen.

30 Minuten nach der Transfusion und an den folgenden Tagen wurden 15-ml-Blutproben gewonnen, aus denen wiederum die Thrombozyten isoliert wurden. Durch Messung der an diese Thrombozyten gebundene Aktivität und Vergleich mit der ursprünglich transfundierten Aktivität wurde der Abbau der markierten Thrombozyten verfolgt. Von den ABO-inkompatiblen wurden in den ersten 24 Stunden durchschnittlich 50 % mehr irreversibel sequestriert als von den ABO-kompatiblen. Der Rest überlebte praktisch genauso lange wie bei kompatiblen Transfusionen.

Wir führen dieses eigenartige Verhalten auf die mechanische Schädigung der Plättchen während der Transfusionszubereitung zurück: Durch diesen Insult werden die nur in den Thrombozyten befindlichen A- bzw. B-Antigene in einem Teil der Zellen freigelegt und somit dem Angriff der Antikörper im inkompatiblen Kreislauf ausgesetzt. Diese Zellen werden irreversibel sequestriert, während die weniger oder gar nicht geschädigten Thrombozyten überleben, weil sie den Antikörpern keinen Angriffspunkt bieten.

Im Zusammenhang mit diesen Untersuchungen wurde die Auswirkung der Höhe des Antikörper-Titers, des transfundierten Antigen-Titers und der mit-transfundierten inkompatiblen Erythrozyten auf die wiederentdeckte Thrombozytenaktivität studiert, ebenso die Unverträglichkeitsreaktionen bei inkompatiblen Thrombozytentransfusionen. Im übrigen gibt die Arbeit einen Überblick über den Stand der Technik und Ergebnisse von Thrombozytentransfusionen bis 1966 und genaue Arbeitsanleitungen für die Herstellung diagnostischer (das sind markierte) und therapeutischer (das sind unmarkierte) Thrombozytentransfusionen.

Herrn Professor Dr. W. STICH danke ich für das Thema und die Arbeitsmöglichkeiten, die er mir zur Durchführung dieser Arbeit an seinem Institut geboten hat.

Besonders bedanke ich mich bei den Herren Dr. med. H. PFISTERER und Dr. med. S. THIERFFLDER, die mich in das Gebiet eingeführt und mir bei allen aufgetretenen Schwierigkeiten geholfen haben.

Fräulein Sigrid Haßlinger und Fräulein Margarethe Keim haben mir ausgezeichnete technische Assistenz geleistet.

V LITERATURVERZEICHNIS

- 1 BOSCH, L.J. : Studies on Platelet Transfusions in Man.
J.B. Wolters, Groningen (1965)
- 2 AAS, K.A. and Survival of blood platelets labelled with
GARDNER, F.H. : Chromium⁵¹.
J. Clin. Invest. 37, S. 1257 (1958)
- 3 FERRINI, O. : Alcuni aspetti delle cronofisiologia piastrinica
studiati per mezzo delle mercatura con radio-
isotopi.
Transfu. Sang. 1, S. 271 (1957)
- 4 LAWRENCE, J.S., Thrombocytopenic purpura: the failure of
VALENTINE, W.N. and direct blood transfusion to raise the platelet
ADAMS, W.S. : level.
J. Lab. Clin. Med. 33, S. 1077 (1948)
- 5 VOSS, D. : Therapie der Thrombopenien.
Tägl. Prax. 6, S. 233
E. und H. Marseille Verlag, München (1965)
- 6 HIRSCH, E.O., Thrombopathic, thrombocytopenia; successful
FAVNE-GILLY, J. and transfusion of blood platelets.
DAMASHEK, W. : Blood 5, S. 568 (1950)
- 7 FONIO, A. : Über fraktionierte Bluttransfusion.
Schweiz.med.Wschr. 14, S. 337 (1936)
- 8 LÜSCHER, E.F. : Physiologie und Pathologie der Thrombozyten.
Schweiz.med.Wschr. Jg. 94, Nr. 49, S. 1701
(1964)
- 9 JEAN, G. und Proc. XVIII Congr. Societe Italiana di
BOSISTO, M. : Ematologia 1961, S. 271
- 10 ABRAHAM, J.P., Americ. J. Clin. Path. 36, S. 712 (1961)
ULATIN, O.N.,
JOHNSON, S.A. and
CALDWELL, M.J. :
- 11 HEILMEYER, L. und Lehrbuch der inneren Medizin,
BEGEMANN, H. : S. 443, Springer-Verlag (1961)

- 12 MARX, R. : Über das relativ häufige Vorkommen der Thrombopathie von Willebrand-Jürgens in München und Umgebung.
Verh. Dtsch. Ges. inn. Med. 60, S. 923 (1954)
- 13 JOHNSON, S. A., R. W. MONTO and M. J. CALDWELL: A new approach to the thrombocytopathies.
A. Thromb. Diath. haem. 2, S. 279 (1958)
- 14 PACHTER, M. R., JOHNSON, S. A., NABLETT, T. R. und TRUANT, J. R. : Amer. J. Clin. Path. 31, S. 467 (1959)
- 15 LÜSCHER, E. F. und TSCHIRREN, B. : Anästhesist 9, S. 211 (1960)
- 16 LEVIN, R. H., E. J. FREIREICH: Effect of Storage up to 48 Hours on Response to Transfusions of Platelet Rich Plasma.
Transfusion 4, S. 251 (1964)
- 17 DJERASSI, J., A. ROY: A Method for Preservation of viable Platelets: Combined Effects of Sugars and Dimethylsulfoxide.
Blood 22, No. 6, S. 703 (1963)
- 18 ASTER, R. H. and J. JANDL: Platelet Sequestration in Man.
I. Methode. Journal Clin. Invest. 43, No. 5, S. 843 (1964)
- 19 ASTER, R. H. : Effect of Anticoagulant and ABO Incompatibility on Recovery of Transfused Human Platelets.
Blood 26, No. 6, S. 732 (1965)
- 20 LEVIN, R. H., J. G. PERT, E. J. FREIREICH: Response to Transfusion of Platelets pooled from multiple Donors and Effects of various technics of concentrating Platelets.
Transfusion 5, S. 54 (1965)
- 21 IVY, A. C., NELSON, D. and BUCHER, G. : The standardization of certain factors in the cutaneous venostasis' bleeding time technique.
J. Lab. Clin. Med. 26, S. 1812 (1941)
- 22 IVY, A. C., SHAPIRO, P. F. and MELNICH, P. : The bleeding tendency in jaundice.
Surg. Gynec. Obstet. 60, S. 781 (1935)

- 23 WINTROBE, M.M.: Clinical Hematology; 5 ed, S. 298
Lea and Febiger, Philadelphia (1961)
- 24 HARTERT, H.: Die Thrombelastographie: Eine Methode zur
physikalischen Analyse des Blutgerinnungsvor-
ganges.
Z. ges. exp. Med. 117, S. 189 (1951)
- 25 AAS, K. A. and F. H. GARDNER: Survival of blood platelets labelled with
chromium.
J. Clin. Invest. 37, S. 1257 (1958)
- 26 R. H. ASTER and J. H. JANDL: Platelet Sequestration in Man.
II. Immunological and Clinical Studies.
J. Clin. Invest. 43, No. 5, S. 856 (1964)
- 27 NAJEAN, Y., ARDAILLOU, N., CAEN, J.,
LARRIEU, M.J. and BERNARD, J.: Survival of radiochromium-labelled platelets
in thrombocytopenia.
Blood 22, S. 718 (1963)
- 28 HJORD, P.F. and PAPUTCHIS, H.: Platelet life span in normal, splenectomized and
hypersplenic rats.
Blood 15, S. 45 (1960)
- 29 AAS, K. A.: Survival of human blood platelets labelled with
 ^{51}Cr in patients with thrombocytopenic and
other pathological conditions. Proceedings of
the 7th international Congress of the international
Society of Haematology /Rom 1960
- 30 PENNY, R., M. C. ROSENBERG, B. G. FIRKIN: The Splenic Platelet Pool.
Blood 27, No. 1, S. 1 (1966)
- 31 GROSSMAN, C. M., R. KOHN and R. KOCH: Possible Errors in the use of P^{32} orthophosphate
for the estimation of platelet life span.
Blood 22, No. 9, S. 514 (1963)
- 32 ASTER, R. H., D. L. SINGER, H. B. COOPER: Simplified complement fixation test for the de-
tection of platelet antibodies in human serum.
J. Lab. Clin. Med. 63, S. 161-172 (1964)

- 33 DAUSSET, J. : The leucoagglutinins (Editorial).
Transfusion 2, S. 209 (1962)
- 34 MOLLISON, P.L. : Blood Transfusion in Clinical Medicine.
Blackwell Scientific Publications, Oxford (1961)
- 35 ASTER, R. H. ,
R. H. LEVIN,
H. COOPER,
E.J. FREIREICH: Complement Fixing Platelet Iso-Antibodies in
Serum of Transfused Persons. Correlation of Anti-
bodies in Serum with Platelet Survival in
Thrombocytopenic Patients.
J. Clin. Invest. S. 428 (1964)
- 36 COOMBS, R.R. A. and The A- and B-Antigens on human platelets
BEDFORD, D. : demonstrated by means of mixed erythro-
cyte-platelet agglutination.
Vox.Sang. 5, S. 111 (1955)
- 37 LUNDEVALL, J. : Serological studies of human blood platelets.
Oslo University Press S. 69 (1958)
- 38 MEYER, W. , Über den Nachweis von Blutgruppen-Antigenen
WUILLERET, B. und in Thrombozyten.
HÄSSIG, A. : Z. immun. Forsch. 112, S. 369 (1959)

LEBENS LAUF

Geboren am 25. 5. 1937 in Stettin. Schule in Travemünde, Lübeck und Krefeld. Ostern 1957 Abitur in Krefeld. Anschließend bis September 1962 bei der Bundeswehr.

Beginn des Medizinstudiums im Wintersemester 1962 an der Universität München. Physikum nach dem fünften Semester, im Februar 1965. Im ersten klinischen Semester während der hämatologischen Vorlesung fand ich Kontakt zu Herrn Professor Dr. W. Stich, I. med. Klinik der Universität München. Er gab mir einen Arbeitsplatz in seinem Labor und den Auftrag, markierte Thrombozytentransfusionen bei normalen und bei pathologischen Fällen durchzuführen. Aufgrund einiger interessanter Befunde wurde das Thema wie vorstehend spezifiziert. Die praktische Arbeit war im Sommer 1966 abgeschlossen.

Am 21. 6. 1968 Staatsexamen in München.

